



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI
DI GENOVA

Scuola di Scienze Mediche e Farmaceutiche
DIPARTIMENTO DI SCIENZE DELLA SALUTE

**Tesi di Dottorato in Metodologie Innovative Applicate a Malattie trasmissibili e
cronico-degenerative: Epidemiologia, Statistica, Prevenzione, Management e
Nursing**
XXXI Ciclo
Coordinatore: Prof. Claudio Viscoli

Curriculum:

Epidemiologia e profilassi di malattie prevenibili con vaccinazione

***Sorveglianza e analisi molecolare delle infezioni causate dal virus
dell'epatite A in Liguria da dicembre 2016 a dicembre 2018***

Relatore:

Prof. Giancarlo Icardi

Co-Relatore:

Dott. Andrea Orsi

Candidato:

Dott.ssa Beatrice D'Ambrosio

Anno Accademico 2017/2018

*A questi tre anni,
capitolo indimenticabile della mia vita.*

Indice

1. Introduzione	5
2. Il virus dell'epatite A	7
2.1 Cenni storici	7
2.2 Tassonomia	7
2.3 Caratteristiche morfologiche e genetiche del virus	8
2.4 Il ciclo replicativo	11
2.5 Caratteristiche di eliminazione del virus	12
2.6 Eziopatogenesi della malattia	13
3. La vaccinazione anti-epatite A	17
4. Il Sistema Epidemiologico Integrato dell'Epatite Virale Acuta (SEIEVA)	20
4.1 Obiettivi	22
4.2 Metodi	23
4.3 Popolazione in studio	23
4.4 Raccolta e flusso dei dati epidemiologici	24
4.5 Analisi dei dati	24
4.6 Diffusione dei risultati	25
4.7 Sistema informativo SEIEVA	25
5. L'epidemiologia dell'epatite A	30
5.1 Epidemiologia italiana	35
6. Obiettivi dello Studio	41
7. Materiali e metodi	42
8. Risultati	44
8.1 Descrizione epidemiologica dei casi	44
8.2 Caratterizzazione molecolare	46
9. Conclusioni	50

1. INTRODUZIONE

I processi infiammatori acuti causati da specifici virus epatotropi costituiscono un gruppo importante di malattie a diffusione mondiale che, pur avendo simili aspetti clinici, biochimici e morfologici, differiscono dal punto di vista etiologico, epidemiologico ed immuno-patogenetico. Le epatiti virali acute attualmente conosciute sono 5, determinate dai cosiddetti virus epatitici: epatite A (HAV), epatite B (HBV), epatite C (HCV), epatite D (delta-HDV) ed epatite E (HEV).

In Italia, le epatiti virali (A, B, NANB, non specificata) sono malattie soggette a notifica obbligatoria appartenenti alla Classe II, come malattie rilevanti ad elevata frequenza e passibili di interventi di controllo, come stabilito dal D.M del 15.12.1990 “Sistema informativo delle malattie infettive e diffusive” (1. *Protocollo, luglio 2017. Sistema Epidemiologico Integrato dell'Epatite Virale Acuta (SEIEVA). Istituto Superiore di Sanità.*).

L'epatite A, tra le differenti epatiti di origine virale, resta un importante problema di Sanità Pubblica, non solo in Paesi ad alta endemia, ma anche in aree caratterizzate da bassa endemia, dove gli eventi epidemici che si manifestano ciclicamente hanno un forte impatto sociale ed economico su tutta la popolazione (2. *Ansaldi et al. 2007. Molecular epidemiology and case-control approaches for management of an outbreak of hepatitis A in Liguria, Italy.*).

La diffusione mondiale dell'epatite A, in forma sia sporadica sia epidemica, porta a stimare circa 1.4 milioni di casi all'anno. Le zone ad endemia più alta sono il Centro-Sud America, l'Africa, il Medio-Oriente, l'Asia e il Pacifico occidentale, mentre nei Paesi industrializzati dell'America e dell'Europa la maggior parte dei casi di epatite A si manifesta in forma sporadica e in particolari occasioni si possono registrare vere e proprie epidemie (3. *www.epicentro.iss.it/epatite/Epidemiologia-Mondo*).

Il nostro Paese è un area a endemicità medio-bassa e, dopo le epidemie del 1992, 1994 e 1997 associate al consumo di frutti di mare contaminati in alcune regioni dell'Italia meridionale, presenta un'incidenza stabile con valori pari a circa 1 caso su 100.000 abitanti (4. *www.epicentro.iss.it/problemi/epatite/Epidemiologiaitalia.asp*).

Negli ultimi anni, dal 2016 sono stati osservati, in tredici Paesi europei, focolai di infezione causati dal virus dell'epatite A. L'ECDC (*European Centre for Disease prevention and Control*), attraverso la pubblicazione del *Rapid Risk Assessment* di dicembre 2016, febbraio e maggio 2017, ha rivelato che i focolai epidemici erano particolarmente diffusi tra i maschi che fanno sesso con maschi (MSM). In particolare, la Spagna e l'Italia hanno riportato un considerevole aumento dei casi rispetto a quelli registrati negli anni precedenti (5. *Circolare del 26/07/2017 del Ministero della Salute, Aggiornamento delle raccomandazioni di prevenzione e immunoprofilassi in relazione alla epidemia di Epatite A*).

In relazione all'aumento del numero dei casi notificati in Italia e nella nostra Regione, la tesi analizza con l'ausilio dei principali sistemi di sorveglianza e analisi molecolare di cui disponiamo, la situazione epidemiologica nazionale e regionale riguardante i casi di epatite A registrati in Liguria da dicembre 2016 a dicembre 2018.

2. IL VIRUS DELL'EPATITE A

2.1 Cenni storici

Nel 1947, McCollum ha introdotto i termini “Epatite A” per le epatiti infettive ed “Epatite B” per le epatiti da siero. Per più di 75 anni si è avuto il sospetto che i virus fossero la causa delle epidemie di gastroenterite non batterica. Nel 1940, Gordon et al. infettarono alcuni volontari con campioni di feci raccolti da pazienti colpiti da gastroenterite non batterica, i quali svilupparono la gastroenterite tra 1 e 5 giorni successivi all'inoculo. Il gruppo di studiosi inoltre dimostrò la capacità dell'agente infettante di diffondersi tra soggetti sani e la perdita del suo potere infettante a seguito dell'inattivazione termica in autoclave, mentre non riuscì il tentativo di identificare l'eventuale virus patogeno con l'utilizzo di colture in uova embrionate di pollo (6. Gordon et al., 1947 *J Am Med Assoc. Recovery of poliomyelitis virus from the throat during the incubation period.*).

Nel 1982, il virus dell'epatite A (HAV) è stato classificato come enterovirus tipo 72 appartenente alla famiglia *Picornaviridae*. Successivamente, la determinazione della sequenza nucleotidica ha portato ad ulteriori modifiche nella classificazione del microorganismo, con la creazione di un nuovo genere, Hepatovirus, creato apposta per l'HAV (7. Minor PD. 1991 *J Gen Viro. Antigenic structure of chimeras of type 1 and type 3 polioviruses involving antigenic sites 2, 3 and 4.*).

2.2 Tassonomia

Il virus dell'epatite A (HAV) appartiene alla famiglia delle *Picornaviridae*. A questa famiglia vi appartengono i virus di piccolissime dimensioni (25-30 nm) con genoma a RNA a singolo filamento positivo, con simmetria icosaedrica e privi di rivestimento lipidico (Fig.1).

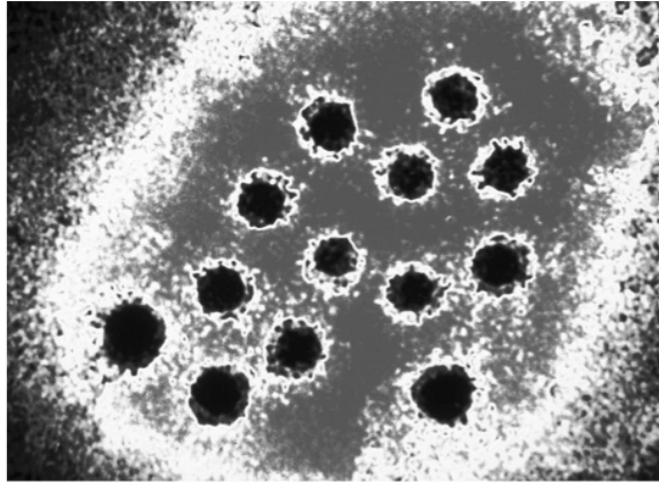


Fig.1. Fotografia al microscopio elettronico di particelle del virus dell'epatite A (*Kenneth K Lee et Jill Beyer, 2000*).

Infatti, il nome deriva dall'unione delle parole “pico”, ovvero piccolo, e RNA, riferendosi al genoma costituito da acido ribonucleico. A questa famiglia appartengono anche altri virus patogeni per l'uomo tra cui, lo *Human Rhinovirus 14* (HRV14), l' *Encephalomyocarditis virus* (ECMV) e l' *Aphthovirus* tra cui il Foot-and-Mounth disease virus (FMDV).

2.3 Caratteristiche morfologiche e genetiche del virus

Il virus dell'epatite A è un virus di 27-32 nm, il suo capsidè a simmetria icosaedrica, formato da 32 subunità o capsomeri e contiene un singolo filamento di RNA a polarità positiva di circa 7.5 kb. Come tutti i Picornavirus, il suo genoma può essere diviso in tre distinte regioni (Fig.2) (8. *Lee KK, Beyer-Blodget J. West J Med. 2000. Screening travelers for hepatitis A antibodies: an observational cost-comparison study of vaccine use*).

- Una regione non codificante all'estremità 5' (5'UTR) che costituisce circa il 10% del genoma a cui è covalentemente legata una proteina virale (VPg) che interviene nella replicazione;
- Una lunga open reading frame (ORF) che codifica per una poliproteina di circa 250 kDa, da cui si originano tutte le proteine virali;

- Una corta regione non codificante all'estremità 3''(3'UTR), seguita da una coda poli-A, di 40-80 nucleotidi (9. Hollinger et al., 1996, *Trasfusion. Donor levels of serum alanine aminotransferase activity and antibody to hepatitis B core antigen associated with recipient hepatitis C and non-B, non-C outcomes*).

L'espressione genica e l'assemblaggio delle proteine richiedono una maturazione di singole proteine attraverso la digestione proteolitica della catena poliaminoacidica in tre regioni, chiamate P1, P2 e P3. La regione P1 viene processata per formare le proteine capsidiche virali (VP1, VP2, VP3, VP4) che sono essenziali per la formazione del virione ma non per le particelle virali mature.

Queste proteine strutturali vengono poi tagliate dalla proteasi virale 3C che è codificata dalla regione P3. Le proteine non strutturali derivano dalla regione P2 e P3 e servono per la sintesi dell'RNA e per l'assemblaggio dei virioni. La regione P3 inoltre contiene le proteine 3A, 3B, 3C e 3D (10. Vaughan et al., 2014. *Infect. Genet. Evol. Hepatitis A virus: host interactions, molecular epidemiology and evolution.*) (Fig.2).

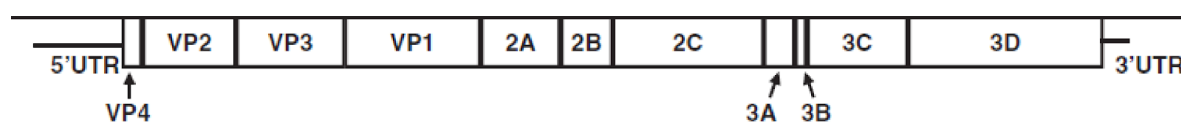


Fig.2. Regioni genomiche dell'HAV (10. Vaughan et al., 2014).

La regione 5'NTR risulta essere la più conservata dell'intero genoma ed è stata molto utilizzata per sviluppare la maggior parte dei metodi di analisi per la diagnosi specifica di tale microrganismo in differenti substrati ambientali e clinici (11. Sanchez et al., 2007, *Lett. Appl. Microbio. Hepatitis A virus detection in food: current and future prospects*). La regione meno conservata è quella codificante per la proteina virale 1 (VP1) che, per questo motivo, è stata ampiamente studiata per comprendere l'evoluzione molecolare e per definire la distribuzione geografica del virus dell'Epatite A (12. Robertson et al., 1992. *J. Gen. Virol.*

Genetic relatedness of hepatitis A virus strains recovered from different geographical regions).

La genotipizzazione del virus dell'epatite A viene effettuata comparando la percentuale di identità delle basi nella congiunzione tra la VP1 e la poliproteina non strutturale 2A (VP1/2A) del genoma anche se secondo alcuni Autori la comparazione di solo questo tratto (circa 168 basi) non è sufficiente ed inoltre tutto il gene dovrebbe essere confrontato per comprendere l'evoluzione molecolare dell'HAV (13. Costa-Mattioli *et al.*, 2002. *J. Virol. Molecular evolution of hepatitis A virus: a new classification based on the complete VP1 protein.*). Sono stati identificati sei genotipi conosciuti I-VI, diversi per più del 15% della sequenza genomica, che sono stati definiti sulla base delle analisi di 168 nucleotidi della regione VP1/2A. I genotipi I, II and III, sono ulteriormente suddivisi in due sottotipi A e B; il genotipo I è quello con maggiore prevalenza nel mondo e l'IA è più frequente dell'IB; il genotipo IIIA è più frequente in Asia Centrale.

Nelle aree a bassa endemicità, come gli Stati Uniti e l'Europa occidentale, il genotipo IA è il più frequente, ma sono stati riportati anche casi legati agli altri genotipi. A causa di questo basso livello di diversità antigenica tutti i virus di HAV sono dello stesso sierotipo e l'immunità ottenuta a seguito di un'infezione, anche asintomatica, dura tutta la vita verso tutti i diversi genotipi umani (14. Desbois *et al.*, 2010. *J.Clin Microbiol. Epidemiology and genetic characterization of hepatitis A virus genotype IIA*).

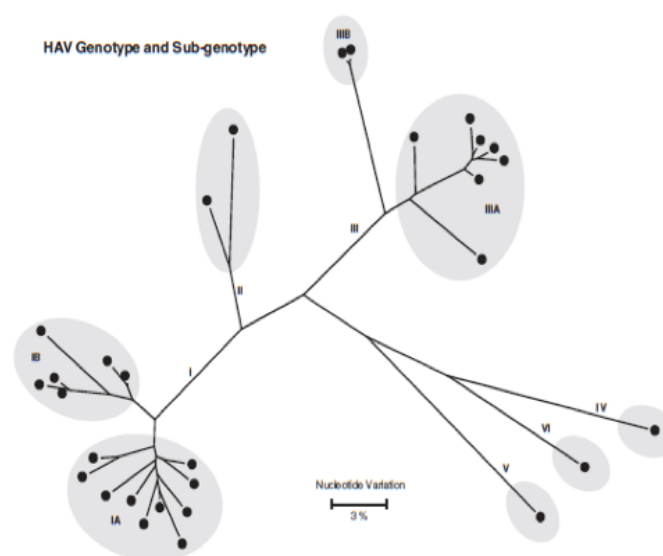


Fig.3. Classificazione dei genotipi di HAV (Vaughan *et al.*, 2014)

2.4 Il ciclo replicativo

Il virus penetra nella cellula ospite per endocitosi dopo essersi legato al recettore specifico sulla membrana cellulare (HAVCR1) (15. *Lemon et al, 2017 Type A viral hepatitis: A summary and update on the molecular virology, epidemiology, pathogenesis and prevention*); inoltre, è stato riportato da studi di letteratura che anche i recettori HAVCR2 e per la sialoglicoproteina partecipano all'ingresso del virus. Il virus dall'intestino raggiunge il fegato attraverso il circolo sanguigno e infetta gli epatociti. L'RNA del virus viene immediatamente tradotto dall'apparato ribosomiale della cellula ospite nella lunga poliproteina che successivamente viene tagliata a formare le proteine virali strutturali e non. Parte dell'RNA genomico viene usato come stampo per la replicazione che avviene attraverso la sintesi intermedia di un RNA a polarità negativa, su cui viene poi sintetizzato l'RNA genomico, utilizzando la polimerasi virale 3D e la proteina VPg come primer, in un complesso replicativo a livello delle membrane cellulari (16. *Peersen, 2017 - Picornaviral Polymerase Structure, Function, and Fidelity Modulation*; 17. *Jiang et al, 2014 - Picornavirus Morphogenesis*).

Nel complesso replicativo intervengono anche le proteine 2B, 2C, 3AB e 3C (o 3ABC). Le proteine strutturali si assemblano per formare un capside che avvolge l'RNA. Le particelle virali complete vengono liberate all'esterno della cellula in vescicole citoplasmatiche che si rompono, rilasciando il virus. Durante la replicazione virale non si osserva il blocco della sintesi proteica cellulare e tutte le sue fasi non provocano danni visibili alla cellula, contrariamente a quanto avviene nel caso degli altri Picornavirus (10. *Vaughan et al., 2014*) (Fig.4).

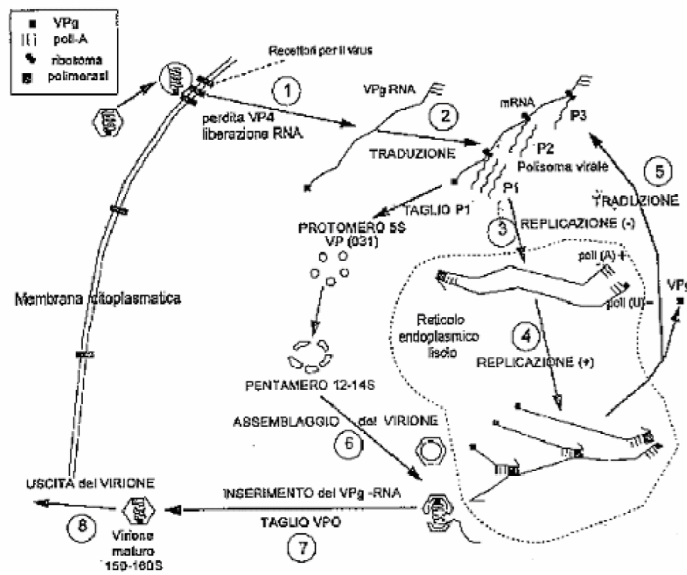


Fig.4. Ciclo replicativo del virus dell'epatite A (10.Vaughan et al., 2014)

2.5 Caratteristiche di eliminazione del virus

Il virus dell'epatite A è particolarmente resistente agli agenti fisici e chimici: resiste alla temperatura di 60°C per 1 ora, all'inattivazione con etere e cloro (1ppm) per 30 minuti e alle soluzioni acide a pH 3. Mentre, può essere eliminato: con la lavorazione in autoclave a 121°C per 20 minuti, in acqua a temperatura di ebollizione mantenuta per 5 minuti, in calore secco a 180°C per 1 ora, dai raggi ultravioletti (a 1,1 watt) in 1 minuto e dalla formalina (1:4000) in 3 giorni a 37°C. La lavorazione dei cibi e disinfezione delle superfici assume un ruolo fondamentale nella prevenzione delle malattie a trasmissione oro-fecale, come l'epatite A.

Nella vita di tutti i giorni per inattivare il virus è necessario:

- Il riscaldamento dei cibi ad una temperatura superiore a 85°C per 1 minuto
- La disinfezione con sodio ipoclorito (diluizione 1:10 di candeggina) delle superfici

(18. Malattie infettive M. Moroni settima edizione 2001, Microbiologia medica, Javetz Butel – Morse).

2.6 Eziopatogenesi della malattia

Il virus dell'epatite A ha un periodo di incubazione che può variare tra i 15 e i 50 giorni con una media intorno ai 28 giorni, si trasmette per via oro-fecale e riesce a sopravvivere al passaggio nello stomaco grazie alla sua capacità di resistere in ambiente acido. Il virus a livello intestinale si moltiplica, e sebbene non sia ancora conosciuta la modalità con cui dal lume intestinale migri all'interno della parete, è ipotizzata la presenza di recettori specifici, di cui al momento non è stata dimostrata l'esistenza nell'uomo. Una volta localizzato nel fegato, sede principale dell'infezione, viene liberato dagli epatociti infetti nelle vie biliari, e quindi distribuito nell'ambiente con le feci. Nonostante siano localizzazioni di importanza secondaria possono essere rilevate tracce del virus anche nei linfonodi, nella milza e nel rene a livello della membrana basale glomerulare. La massima concentrazione virale si registra nella fase pre-itterica con rapida diminuzione dopo la comparsa dell'ittero e scomparsa entro pochi giorni. (18. *Malattie infettive M. Moroni settima edizione 2001, Microbiologia medica, Javetz Butel – Morse*).

L'infezione decorre frequentemente in forma asintomatica, specialmente nei bambini, o con sintomi generici di malessere (astenia, anoressia, nausea) e senza comparsa dell'ittero (19. *S. Barbuti, G.M Fara, G. Giammanco. Igiene, Medicina Preventiva e Sanità Pubblica, Edises, 2014*).

La patologia correlata al virus HAV è ad elevata trasmissibilità e ha un periodo di incubazione variabile tra 2 ed 8 settimane, al cui termine si manifesta una fase prodromica, in particolare negli adulti, di 2-10 giorni con caratteristici sintomi clinici: malessere, nausea, anoressia, astenia, mialgie, cefalea, febbre moderata, fino a pervenire alla fase conclamata, caratterizzata dall'iperbilirubinemia, dall'ittero e dall'emissione di urine color marsala e di feci chiare (epatite itterica) (19. *S. Barbuti, G.M Fara, G. Giammanco. Igiene, Medicina Preventiva e Sanità Pubblica, Edises, 2014*).

Contrariamente ai virus dell'epatite B e C sembra che l'HAV causi una minor innalzamento dei livelli di interferone e attraverso una serie di meccanismi di escaping immunologico una minor risposta infiammatoria. Non sono ancora riconosciuti tutti i meccanismi attraverso i quali il virus elicit il danno a livello epatico, ma recenti studi hanno dimostrato un coinvolgimento sia della risposta immune innata delle cellule NK,

sia delle difese cellulo-mediate attraverso i linfociti T (CD8+ e CD4+) e attraverso la formazione di anticorpi protettivi anti-HAV.

Le lesioni anatomiche consistono in genere in una congestione epatica, con moderata epatomegalia e fenomeni fino alla necrosi degli epatociti. Le transaminasi sieriche aumentano fino al punto da raggiungere, durante la fase itterica, valori molto elevati proprio a causa della necrosi delle cellule epatiche infette e del passaggio di enzimi epatici nel torrente ematico.

Trascorse 3-4 settimane le transaminasi e la bilirubina tornano ai valori normali e i sintomi si attenuano fino a scomparire. Alcune volte l'epatite acuta può provocare una necrosi massiva del fegato e perciò il danneggiamento consistente delle funzioni epatiche con la successiva morte del malato. Questa forma di epatite, detta fulminante, risulta essere molto rara e si verifica in meno dell'1,5% dei casi di epatite acuta. Tuttavia in molti altri casi, al termine del periodo di incubazione, la malattia evolve in forma anitterica o del tutto inapparente. L'HAV compare nel sangue dei pazienti e nelle feci circa due settimane dopo l'infezione e prima della comparsa dei sintomi clinici; le feci sono molto infettanti poiché contengono un'altissima quantità di virus (fino a 10⁹ virioni/g) per la durata di circa 2 settimane dopo la comparsa dei sintomi clinici. Mentre non sono osservate evoluzioni verso la forma cronica, esistono forme particolari di epatite:

- colestatica, possibile (10%) nell'adulto, è estremamente rara nel bambino e nell'adolescente;
- ricorrente, caratterizzata da periodi di apparente guarigione alternati a recrudescenze del corteo sintomatologico e innalzamento degli indici ematici, questa forma può caratterizzare il 4-20% dei pazienti, ma in tutti la guarigione è la regola;
- Fulminante, per quanto rara (0,35% dei casi), rappresenta fino al 20% di tutte le forme fulminanti delle epatiti. La letalità aumenta con l'età infatti raggiunge valori pari a 1,8-2,1% negli over50, mentre la media in tutte le età è pari a 0,3-0,6%.

E' importante sottolineare che durante le recrudescenze della forma ricorrente, il virus torna ad essere eliminato con le feci, nei bambini questo avviene per un periodo più lungo rispetto agli adulti.

Per la diagnosi, data la difficoltà dell'isolamento del virus tramite le colture cellulari, si ricorre normalmente alla determinazione degli anticorpi anti-HAV, in particolare delle IgM, che compaiono circa 4 settimane dopo l'infezione e persistono per molti mesi, e delle IgG, che compaiono nel sangue poco dopo le IgM e permangono per tutta la vita (20. Heymann, 2008. *J. Viral. Hepat. Long-term trends in hepatitis A incidence following the inclusion of Hepatitis A vaccine in the routine nationwide immunization program.*) (Fig.5). Gli anticorpi IgG sono protettivi contro tutti i ceppi di HAV, dal momento che esiste solamente un sierotipo virale (21. Brundage et al., 2006. *Am. Fam. Physician. Hepatitis A*). Oltre al dosaggio anticorpale (IgM anti-HAV e IgG anti-HAV), viene spesso svolta la ricerca diretta del virus nel sangue e nelle feci mediante amplificazione genica (PCR), molto utile in occasione di episodi epidemici e nelle indagini epidemiologiche.

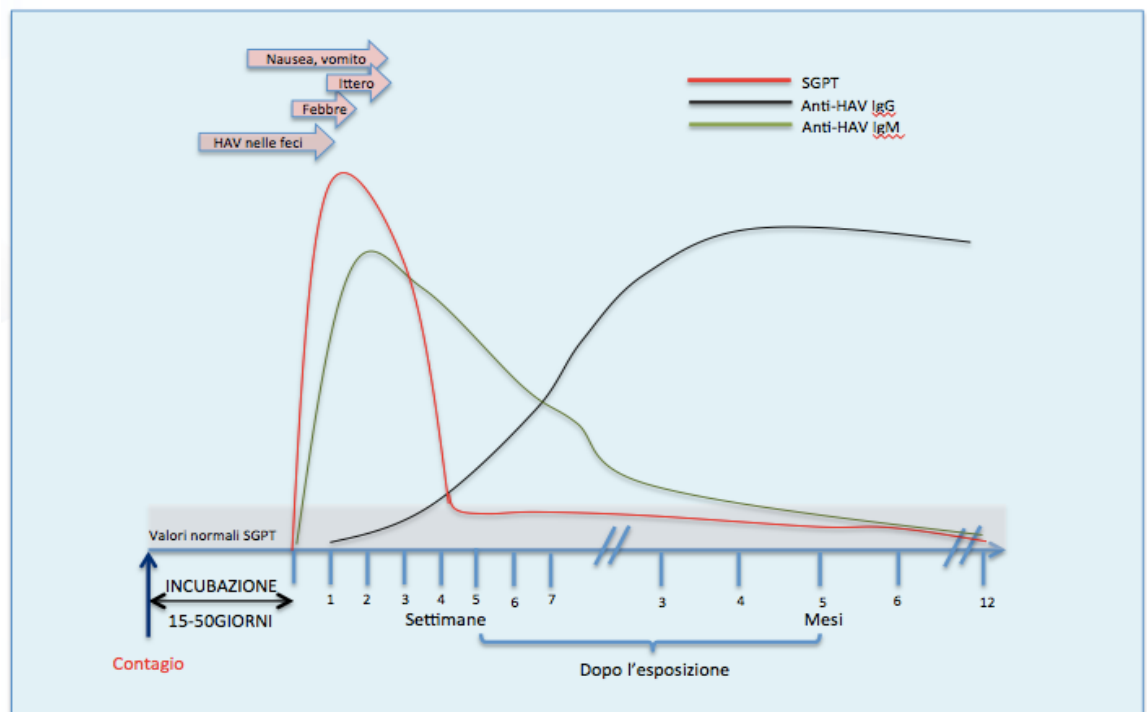


Fig.5. Rappresentazione grafica della sierologia, delle manifestazioni cliniche e della virologia del virus dell'epatite A.

Non esiste un trattamento farmacologico; è stata dimostrata l'efficacia di misure severe di controllo, come rinforzare l'igiene personale, verificare tutti i contatti stretti del paziente e somministrare il vaccino alle persone esposte, per contenere la diffusione della patologia (22. *Latimer et al., 2007. Vaccine. Prevalence and correlates of hepatitis A among adult drug users: the significance of incarceration and race/ethnicity.*; 23. *Sunthornchart et al., 2008. Addiction. Prevalence of hepatitis B, tetanus, hepatitis A, human immunodeficiency virus and feasibility of vaccine delivery among injecting drug users in Bangkok, Thailand, 2003-2005*). Anche l'immunizzazione attiva e passiva può essere utile se somministrata entro due settimane dall'esposizione.

Come è stato già citato nel testo, il virus si trasmette principalmente attraverso materiali contaminati, la via più frequente è quella oro-fecale, ma più raramente può essere trasmesso per contatto da persona a persona.

In caso di commistione tra le acque delle fogne e acque potabili o di trattamento insufficiente di queste ultime possono comparire dei focolai di infezione, sebbene sia una modalità di trasmissione che si verifica raramente nei Paesi più industrializzati.

I fattori favorenti l'infezione sono:

- Condizioni di scarsa igiene e sovraffollamento
- Alimenti consumati crudi o contaminati dopo la cottura (frutti di mare, molluschi, latte, vegetali...)
- viaggi in zone endemiche.

Rara, ma possibile è la trasmissione per via parenterale o ematica, mentre è eccezionale la trasmissione materno-fetale.

3. LA VACCINAZIONE ANTI-EPATITE A

Oltre all'osservanza delle comuni norme igieniche, che vengono adottate generalmente per tutte le malattie a trasmissione oro-fecale, tra cui il lavaggio delle mani e l'eliminazione dei liquidi e del cibo contaminato, il miglior modo per proteggersi dall'epatite A resta il vaccino.

Dato l'importante impatto della patologia da HAV nella popolazione mondiale, sono stati sperimentati e immessi in commercio numerosi vaccini, sia inattivati che a virus vivo attenuato. Il primo vaccino inattivato anti-HAV è stato prodotto da un ceppo di virus coltivato in colture cellulari a partire dalla fine del 1970.

Il vaccino anti-epatite A inattivato in formalina Vaqta® e purificato da lisati cellulari ha mostrato un ottimo profilo di sicurezza dapprima in studi in vitro, poi in test su animali ed infine nell'uomo. Nel 1996, l'*Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP) dell'American Academy of Pediatrics*, ha raccomandato la vaccinazione in alcuni gruppi a rischio; successivamente, già dal 1999 la raccomandazione è stata estesa ai bambini delle zone ad alta incidenza di età superiore ai 2 anni. A partire dal 2006, l'indicazione alla vaccinazione è stata estesa a tutti i bambini di età superiore ai 12 mesi. Successivamente l'OMS ha condiviso le indicazioni dell'ACIP, consigliando l'immunizzazione in tutti i bambini di età ≥ 1 anno per le zone a rischio (24. *Vaccini e Vaccinazioni*, Bartolozzi G. Terza edizione 2012).

I vaccini a virus inattivato hanno evidenziato un'ottima immunogenicità, un buon profilo di sicurezza e tollerabilità. Attualmente, sono disponibili in commercio 4 vaccini a virus vivo inattivato: Havrix®, Vaqta®, Avaxim®, ed Epaxal®. I vaccini citati sono formulati utilizzando antigeni provenienti da ceppi diversi del virus, ma è importante sottolineare che presentano tutti un profilo di efficacia e sicurezza sovrapponibile. Inoltre, sono stati sviluppati vaccini combinati, specialmente indicati in caso di viaggi in zone ad alta endemia; ed in particolare sono stati formulati vaccini contro epatite A e B, e contro epatite A e Tifo. In Cina dal 2005 sono stati sviluppati e autorizzati vaccini a virus vivo attenuato che presenterebbero quali principali vantaggi: la lunga persistenza dell'immunità, il basso costo e la somministrazione orale. Al momento l'altro unico

Paese in cui trovano indicazione è l'India dal 2007. Il profilo di sicurezza ed efficacia di questi vaccini in Europa e Usa è ancora in fase di valutazione.

In Italia, il vaccino è raccomandato ai bambini a partire dal 12° mese di vita in due dosi a distanza di almeno 6 mesi l'uno dall'altra, che garantiscono una protezione duratura. Inoltre è consigliato ad alcune categorie della popolazione, tra cui:

- A tutti i soggetti che devono recarsi per vacanza o lavoro in paesi dove la malattia è molto frequente, come quelli situati in Centro o Sud America, Messico, Asia (Giappone escluso), Africa ed Europa orientale. In questi casi è meglio vaccinarsi almeno un mese prima del viaggio;
- Omosessuali;
- Tossicodipendenti;
- Soggetti con malattia epatica cronica;
- Soggetti trattati con concentrati di fattori della coagulazione o derivati del sangue;
- Soggetti che lavorano in laboratori di ricerca in cui è possibile il contagio;
- Membri di famiglie che intendono adottare un bambino proveniente da un Paese nel quale l'Epatite A è endemica;
- Bambini, adolescenti e soggetti che vivono in luoghi in cui vi sono focolai epidemici;
- Soggetti in cui è probabile sia avvenuto il contatto col virus dell'epatite A.

Il vaccino anti-epatite A è un vaccino molto sicuro, che solo in rari casi causa problemi gravi (gravi reazioni allergiche), anche se possono essere osservate alcune reazioni di lieve entità che, una volta presentatesi, possono persistere per 24-48 ore:

- dolore nella sede della puntura (la metà degli adulti e il 15% dei bambini);
- mal di testa (il 15% degli adulti e il 4% dei bambini);
- inappetenza (l'8% dei bambini);
- debolezza (il 7% degli adulti).

(25. <https://www.vaccinarsi.org/scienza-conoscenza/vaccini-disponibili/vaccino-anti-epatite-a>)

Il Piano Nazionale di Prevenzione vaccinale 2017-2019 (PNPV) (Tab.1), approvato in Conferenza Stato-Regioni il 19 gennaio 2017 e pubblicato in Gazzetta Ufficiale il mese successivo, definisce delle raccomandazioni per l'immunizzazione con vaccino anti-epatite

A.

Queste possono essere suddivise principalmente in:

- Cliniche,
- Comportamentali,
- Occupazionali,

ma in definitiva la vaccinazione viene fortemente raccomandata in condizioni epidemiologiche di rischio.

Il calendario vaccinale

Vaccino	0gg-30gg	3° mese	4° mese	5° mese	6° mese	7° mese	11° mese	13° mese	15° mese	⇔	6° anno	12°-18° anno	19-49 anni	50-64 anni	> 64 anni	Soggetti ad aumentato rischio
DTPa**		DTPa		DTPa			DTPa				DTPa***	dTpaIPV	1 dose dTpa**** ogni 10 anni			(1)
IPV		IPV		IPV			IPV				IPV					
Epatite B	EpB- EpB*	Ep B		Ep B			Ep B									(2)
Hib		Hib		Hib			Hib									(3)
Pneumococco		PCV		PCV			PCV								PCV+PPSV	(4)
MPRV								MPRV			MPRV					(6)
MPR								oppure MPR + V			oppure MPR + V					(5)
Varicella																(6)
Meningococco C								Men C [§]				Men ACWY coniugato				(7)
Meningococco B**^		Men B	Men B		Men B			Men B								
HPV												HPV [¶] : 2-3 dosi (in funzione di età e vaccino)				(8)
Influenza															1 dose all'anno	(9)
Herpes Zoster															1 dose#	(10)
Rotavirus		Rotavirus## (due o tre dosi a seconda del tipo di vaccino)														
Epatite A																(11)

Tab.1. Piano Nazionale di Prevenzione Vaccinale 2017-2019 (PNPV). La vaccinazione per l'epatite A viene indicata nella colonna: soggetti ad aumentato rischio, con numero di dosi indicato dalla scheda tecnica del preparato vaccinale.

4. Il Sistema Epidemiologico Integrato dell'Epatite Virale Acuta (SEIEVA)

Le epatiti virali sono malattie infettive che, come stabilito dall'attuale normativa (Decreto Ministeriale del 15 dicembre 1990: "Sistema Informativo delle Malattie Infettive e Diffusive" SIMID), sono soggette a notifica obbligatoria (Classe II, ovvero malattie rilevanti perché ad elevata frequenza e passibili di interventi di controllo).

Dal 1985, la sorveglianza speciale SEIEVA (Sistema Epidemiologico Integrato delle Epatiti Virali Acute), coordinata dal Centro Nazionale per la Salute Globale e dal Dipartimento di Malattie Infettive dell'Istituto Superiore di Sanità, affianca e integra il SIMID.

Le informazioni provenienti dai questionari epidemiologici SEIEVA, integrate ai risultati di laboratorio, consentono infatti una più approfondita conoscenza dell'epidemiologia dell'epatite a livello nazionale, attraverso il monitoraggio dell'andamento e della diffusione di ciascuna epatite, la caratterizzazione dei patogeni che le causano, nonché la comprensione e la stima del contributo relativo dei diversi fattori di rischio associati. Ciò permette inoltre la definizione di misure preventive alle quali dare priorità e il monitoraggio degli effetti dei diversi programmi di prevenzione.

Sono sotto sorveglianza SEIEVA tutte le epatiti virali acute, in particolare le 5 malattie causate dai virus cosiddetti epatitici maggiori:

- epatite A (HAV)
- epatite B (HBV)
- epatite C (HCV)
- epatite D (o Delta) (HDV)
- epatite E (HEV)

Dal 2011 il SEIEVA è inserito all'interno della "Enhanced Surveillance for Hepatitis B and C" gestita dall'European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC).

I dati SEIEVA finora condivisi sono quelli relativi agli anni 2006-2016.

Nel 2015 il SEIEVA ha compiuto 30 anni di attività e in questo periodo sono stati numerosi i focolai epidemici, soprattutto di epatite A, che sono stati analizzati e per cui sono stati presi provvedimenti necessari (26. *XI Workshop SEIEVA - Il Sistema Epidemiologico Integrato dell'Epatite Virale Acuta (SEIEVA) a 30 anni dal suo avvio: riflessioni sullo stato dell'arte e prospettive future*, 2015).

Il Sistema ha mostrato una notevole flessibilità nell' adattarsi alle varie evidenze che venivano dimostrate, ad esempio a seguito del verificarsi dei primi casi di epatite A correlati al consumo di frutti di bosco si è provveduto all'inclusione di una domanda specifica sul consumo di tale alimento all'interno del questionario SEIEVA.

Un importante utilizzo dei dati provenienti dalla sorveglianza è l'identificazione dei fattori di rischio che contribuiscono alla diffusione dei diversi virus dell'epatite.

I dati raccolti permettono lo svolgimento di studi retrospettivi di tipo caso-controllo, ad esempio consentono il confronto tra i casi di epatite a trasmissione oro-fecale e i casi a trasmissione parenterale.

L'analisi dei dati derivanti dal SEIEVA ha avuto un ruolo fondamentale nella impostazione delle strategie vaccinali relative sia all'epatite A sia all'epatite B. Ad esempio, l'indicazione emersa dai dati dalla sorveglianza, a partire dalla fine degli anni '80, sull'importanza della trasmissione sessuale dell'epatite B, ha contribuito fortemente all'estensione della vaccinazione dell'obbligo ai dodicenni, oltre che ai nuovi nati.

(27. <http://www.iss.it/seieva/>)

Di seguito, viene riportato il protocollo SEIEVA (ultima versione di Luglio 2017), al quale fa riferimento lo studio di Sorveglianza e analisi molecolare delle infezioni causate dal virus dell'epatite A in Liguria da dicembre 2016 a dicembre 2018, che verrà sviluppato nei capitoli seguenti della tesi.

4.1 Obiettivi

Il SEIEVA si prefigge come obiettivo principale quello di descrivere l'epidemiologia dell'epatite acuta in Italia, differenziata per tipo specifico, e promuoverne l'indagine ed il controllo a livello nazionale e locale, con particolare riferimento all'incidenza ed ai fattori di rischio associati alla malattia.

Gli obiettivi specifici, pertanto, sono:

1. la segnalazione dei casi di epatite acuta differenziata per tipo;
2. l'epidemiologia descrittiva dell'epatite acuta tipo-specifico, con particolare riferimento all'incidenza per data e luogo di insorgenza dei sintomi, età e sesso dei casi;
3. la precoce individuazione di focolai epidemici;
4. la valutazione della proporzione dei casi di ciascun tipo di epatite acuta, esposti a fattori di rischio noti;
5. per ciascun tipo di epatite acuta, lo studio delle variazioni nel tempo, del rischio relativo ed attribuibile associato a particolari esposizioni;
6. la definizione e valutazione di appropriate strategie di controllo basate sull'importanza relativa dei diversi fattori di rischio.

4.2 Metodi

La sorveglianza SEIEVA si avvale di:

- una rete di ASL, su tutto il territorio nazionale, partecipanti su base volontaria, attraverso la sottoscrizione di una scheda di adesione (al momento dell'adesione, ogni ASL identifica il referente SEIEVA, ovvero colui che riceve le comunicazioni, fornisce i dati, e il cui nome è menzionato negli articoli e rapporti pubblicati);
- un coordinamento epidemiologico, responsabile della raccolta, integrazione, analisi e divulgazione dei dati, del controllo di qualità dei dati pervenuti, situato presso il Centro Nazionale per la Salute Globale dell'ISS.

4.3 Popolazione in studio

Alle ASL che aderiscono alla sorveglianza è richiesto di segnalare al SEIEVA tutti i casi che rispondono ad una delle seguenti definizioni:

1. qualsiasi persona con diagnosi confermata di epatite virale acuta A, B, C, D o E.
2. Qualsiasi persona che presenti una manifestazione di sintomi distinti (ad esempio stanchezza, dolori addominali, perdita di appetito, nausea e vomito intermittenti), e almeno una delle seguenti tre manifestazioni:
 - febbre
 - ittero
 - livelli elevati di transaminasi sieriche.
3. Qualsiasi persona che risulti positiva alla ricerca dei marcatori sierologici (marker) di epatite acuta (IgM anti-HAV, IgM anti-HBc, IgM anti-HEV, IgM anti-HDV).

Nell'Allegato 1 sono riportate le definizioni di caso confermato.

4.4 Raccolta e flusso dei dati epidemiologici

La segnalazione al SEIEVA di ogni nuovo caso di epatite acuta è pertinenza della ASL di diagnosi, la quale, dopo aver ricevuto le segnalazioni attraverso il medico, che sia esso ospedaliero o di base, che ha diagnosticato la malattia infettiva, avvia le procedure di verifica e indagine.

Già prima che sia noto il tipo di epatite, ciascun caso viene intervistato, meglio durante il periodo di ospedalizzazione, attraverso un questionario standardizzato (cosiddetta “scheda SEIEVA” Allegato 2), dall’operatore sanitario, referente SEIEVA della ASL di diagnosi. La scheda SEIEVA raccoglie informazioni demografiche, comprende domande sul rischio di trasmissione parenterale, nei sei mesi precedenti l’insorgenza della malattia, e oro-fecale nelle sei settimane precedenti.

Una volta completata l’intervista, l’operatore sanitario contatta l’ospedale o il medico curante (nel caso di pazienti non ospedalizzati) per ottenere informazioni sulla conferma diagnostica e gli esiti della ricerca dell’antigene di superficie del virus B (HBsAg), delle IgM anti-HBc, delle IgM anti-HAV, delle IgM anti-HEV, dell’anti-HCV, dell’HCV-RNA e delle IgM anti-Delta. I markers sierologici disponibili, risultati dei test di laboratorio, vengono registrati sul questionario.

Tutti i questionari compilati confluiscono nel database SEIEVA mediante un sito web dedicato (vedi paragrafo: Sistema Informativo SEIEVA) che consente un flusso continuo di inserimento “on line” da parte delle ASL. Qualora questa modalità di invio non fosse possibile è accettabile la spedizione delle schede SEIEVA in formato cartaceo per posta/fax.

4.5 Analisi dei dati

Per il calcolo dei tassi di incidenza il denominatore utilizzato è costituito dalla somma delle popolazioni delle singole ASL che aderiscono al SEIEVA; tali popolazioni, divise per fasce di età quinquennali, vengono segnalate da ognuna delle ASL al gruppo di coordinamento epidemiologico al momento dell’adesione ed aggiornate periodicamente.

Ove necessario, soprattutto in caso di focolai epidemici, vengono condotti studi analitici per identificare le possibili fonti di infezione, testare le ipotesi sulle modalità di trasmissione dell'infezione, valutare il ruolo dei diversi fattori di rischio, utilizzando l'approccio caso-controllo e, quando possibile, l'approccio di coorte.

4.6 Diffusione dei risultati

I dati aggregati e i risultati delle relative analisi vengono presentati e diffusi a tutti i partecipanti alla rete di sorveglianza ed alla comunità scientifica, attraverso rapporti tecnici (Rapporti ISTISAN, pubblicazione edita dall'Istituto Superiore di Sanità), articoli scientifici, presentazioni a convegni nazionali e internazionali, riportando il nome dei referenti SEIEVA come gruppo di lavoro. In particolare, attraverso il sito internet del SEIEVA (<http://www.iss.it/seieva>) vengono diffusi i risultati della sorveglianza: annualmente vengono pubblicati i tassi di incidenza relativi all'anno precedente, stratificati per tipo di epatite, sesso, età e area geografica. Per ogni tipo di epatite viene inoltre illustrata la frequenza dei casi che riportano i diversi fattori di rischio di trasmissione sia parenterale, sia oro-fecale.

4.7 Sistema Informativo SEIEVA

Dal 2008 è disponibile un sito web dedicato attraverso il quale è possibile trasmettere i questionari epidemiologici dei casi da segnalare al SEIEVA. L'indirizzo internet è il seguente: <http://www.iss.it/site/seieva>.

L'accesso è protetto da password e l'accreditamento deve essere richiesto al gruppo di coordinamento del SEIEVA. Attraverso il sistema informativo SEIEVA, oltre all'inserimento dei dati, è possibile:




- produrre un semplice report pre-impostato, composto da tabelle e grafici, che descrive la distribuzione dei casi di epatite della propria ASL/Regione per l'anno di diagnosi selezionato;
- scaricare i dati, relativi ai casi segnalati dalla propria ASL/regione.

Allegato 1. Definizione di caso confermato

<p>EPATITE A (virus dell'epatite A)</p> <p>Qualsiasi persona che soddisfi i seguenti criteri clinici e di laboratorio:</p> <p>Criteri clinici</p> <p>Qualsiasi persona che presenti una manifestazione di sintomi distinti (ad esempio stanchezza, dolori addominali, perdita di appetito, nausea e vomito intermittenti),</p> <p>e</p> <p>almeno una delle seguenti tre manifestazioni:</p> <ul style="list-style-type: none"> — febbre, — ittero, — livelli elevati di transaminasi sieriche. <p>Criteri di laboratorio</p> <p>Almeno uno dei seguenti tre criteri:</p> <ul style="list-style-type: none"> — identificazione dell'acido nucleico del virus dell'epatite A nel siero o nelle feci — risposta anticorpale alle IgM anti virus dell'epatite A, — identificazione dell'antigene del virus dell'epatite A nelle feci. <p>Rientrano tra i casi di epatite A anche quei soggetti che, in assenza di segni clinici, risultino positivi alla ricerca di IgM anti- HAV.</p>	<p>EPATITE E (virus dell'epatite E)</p> <p>Qualsiasi persona che soddisfi i seguenti criteri clinici e di laboratorio:</p> <p>Criteri clinici</p> <p>Qualsiasi persona che presenti una manifestazione di sintomi distinti (ad esempio stanchezza, dolori addominali, perdita di appetito, nausea e vomito intermittenti),</p> <p>e</p> <p>almeno una delle seguenti tre manifestazioni:</p> <ul style="list-style-type: none"> — febbre, — ittero, — livelli elevati di transaminasi sieriche. <p>Criteri di laboratorio</p> <p>Che soddisfi tutti i seguenti criteri:</p> <ul style="list-style-type: none"> — risposta anticorpale alle IgM anti virus dell'epatite E, — mancata risposta anticorpale alle IgM anti virus dell'epatite A — mancata risposta anticorpale alle IgM contro l'antigene del core del virus dell'epatite B. <p>Rientrano tra i casi di epatite E anche quei soggetti che, in assenza di segni clinici, risultino positivi alla ricerca di IgM anti- HEV.</p>
<p>EPATITE B (virus dell'epatite B)</p> <p>Qualsiasi persona che risultati positiva alla ricerca dell'anticorpo IgM contro l'antigene del core del virus dell'epatite B (anti-HBc IgM).</p> <p>Il quadro clinico del soggetto non è pertinente ai fini della sorveglianza.</p>	<p>EPATITE Delta (virus dell'epatite D)</p> <p>Qualsiasi persona che risultati positiva alla ricerca dell' anticorpo IgM anti virus dell'epatite D (anticorpi anti HDV- IgM)</p> <p>Il quadro clinico del soggetto non è pertinente ai fini della sorveglianza.</p>
<p>EPATITE C (virus dell'epatite C)</p> <p>Qualsiasi persona che soddisfi i seguenti criteri</p>	<p>EPATITE NonA-NonE</p> <p>Qualsiasi persona che soddisfi i seguenti criteri</p>

<p>clinici e di laboratorio:</p> <p>Criteri clinici</p> <p>Qualsiasi persona che presenti una manifestazione di sintomi distinti (ad esempio stanchezza, dolori addominali, perdita di appetito, nausea e vomito intermittenti),</p> <p>e</p> <p>almeno una delle seguenti tre manifestazioni:</p> <ul style="list-style-type: none"> — febbre, — ittero, — livelli elevati di transaminasi sieriche. <p>Criteri di laboratorio</p> <p>Almeno uno dei seguenti due criteri:</p> <ul style="list-style-type: none"> — identificazione dell'acido nucleico del virus dell'epatite C (HCV RNA), — identificazione dell'antigene del core del virus dell'epatite C (HCV-core). 	<p>clinici e di laboratorio:</p> <p>Criteri clinici</p> <p>Qualsiasi persona che presenti una manifestazione di sintomi distinti (ad esempio stanchezza, dolori addominali, perdita di appetito, nausea e vomito intermittenti),</p> <p>e</p> <p>almeno una delle seguenti tre manifestazioni:</p> <ul style="list-style-type: none"> — febbre, — ittero, — livelli elevati di transaminasi sieriche. <p>Criteri di laboratorio</p> <ul style="list-style-type: none"> — mancata risposta a qualsiasi marcatore di epatite virale nota.
---	---

Allegato 2. Questionario di un caso notificato di epatite virale acuta (SEIEVA)

 Istituto Superiore di Sanità Rep. Epid. Clinica e Linee Guida		QUESTIONARIO DI UN CASO NOTIFICATO DI EPATITE VIRALE ACUTA (SEIEVA)		Trascrivere Identificativo Scheda 	
A.S.L. _____		Regione _____		Numero Caso	
 STRETTAMENTE RISERVATO		Si prega di dare uguale rilievo a tutte le domande e segnare o scrivere la risposta nelle apposite caselle o righe. Se il caso è di età inferiore a 15 anni, intervistare insieme ad un parente o tutore.			
Data Intervista giorno mese anno		Cognome iniziale Nome iniziale			
Comune di domicilio abituale _____					
Cittadinanza _____		Se è diversa da "Italiana", da quanti anni vive in Italia? anni			
Età		Sesso <input type="checkbox"/> Maschio <input type="checkbox"/> Femmina		Attività _____	
Titolo di studio più alto conseguito (del capofamiglia, se il caso è minorenne) _____					
 IMPORTANTE		EFFETTUARE L'INTERVISTA IN UN CLIMA DI ASSOLUTA RISERVATEZZA. Intervistare il paziente senza aspettare i risultati di laboratorio da aggiungere appena disponibili			
1	Durante la sua malattia è diventato giallo?		<input type="checkbox"/> 1 Sì	<input type="checkbox"/> 0 No	<input type="checkbox"/> 8 Non so
2	In che data è iniziata la malattia?		giorno mese anno		
3	E stato ospedalizzato per questa malattia?		<input type="checkbox"/> 1 Sì	<input type="checkbox"/> 0 No	<input type="checkbox"/> 8 Non so
3.a	Se Sì, quanti giorni è rimasto in ospedale?		giorni		
DURANTE LE 6 SETTIMANE PRIMA DELL'INIZIO DELLA MALATTIA:					
4	Ha preso farmaci?		<input type="checkbox"/> 1 Sì	<input type="checkbox"/> 0 No	<input type="checkbox"/> 8 Non so
4.a	Se Sì, quali _____		Per quanto tempo? giorni		
4.b	Se Sì, quali _____		Per quanto tempo? giorni		
4.c	Se Sì, quali _____		Per quanto tempo? giorni		
4.d	Se Sì, quali _____		Per quanto tempo? giorni		
5	Ha consumato frutti di mare?		<input type="checkbox"/> 1 Sì	<input type="checkbox"/> 0 No	<input type="checkbox"/> 8 Non so
5.a	Se Sì, i frutti di mare consumati erano tutti o in parte crudi?		<input type="checkbox"/> 1 Sì	<input type="checkbox"/> 0 No	<input type="checkbox"/> 8 Non so
6	Ha consumato frutti di bosco?		<input type="checkbox"/> 1 Sì	<input type="checkbox"/> 0 No	<input type="checkbox"/> 8 Non so
6.a	Se Sì, i frutti di bosco erano:		<input type="checkbox"/> 1 Congelati	<input type="checkbox"/> 2 Freschi	<input type="checkbox"/> 3 Entrambi
7	Ha bevuto acqua di pozzo o di sorgente?		<input type="checkbox"/> 1 Sì	<input type="checkbox"/> 0 No	<input type="checkbox"/> 8 Non so
8	Ha trascorso almeno una o più notti fuori dalla sua città?		<input type="checkbox"/> 1 Sì	<input type="checkbox"/> 0 No	<input type="checkbox"/> 8 Non so
8.a	Se Sì, dove? _____		Quando giorno mese anno		
9	Le è stata somministrata almeno una dose di vaccino per l'epatite A?		<input type="checkbox"/> 0 No	<input type="checkbox"/> 1 Sì, una dose	<input type="checkbox"/> 2 Sì, due dosi
9.a	Se Sì: 1° dose - tipo vaccino _____ data _____		giorno mese anno		
9.b	2° dose - tipo vaccino _____ data _____		giorno mese anno		
DURANTE I 6 MESI PRIMA DELL'INIZIO DELLA MALATTIA:					
10	Ha avuto somministrazione di sangue o di plasma?		<input type="checkbox"/> 1 Sì	<input type="checkbox"/> 0 No	<input type="checkbox"/> 8 Non so
11	Ha avuto somministrazione di altri derivati del sangue (fattori della coagulazione, immunoglobuline, etc.)?		<input type="checkbox"/> 1 Sì	<input type="checkbox"/> 0 No	<input type="checkbox"/> 8 Non so
12	Ha avuto interventi chirurgici (compresa piccola chirurgia)?		<input type="checkbox"/> 1 Sì	<input type="checkbox"/> 0 No	<input type="checkbox"/> 8 Non so
12.a	Se Sì: Specificare il tipo di intervento: _____		<input type="checkbox"/> 1 Ambulatoriale	<input type="checkbox"/> 2 Con ricovero	
13	E' stato sottoposto ad endoscopia?		<input type="checkbox"/> 1 Sì	<input type="checkbox"/> 0 No	<input type="checkbox"/> 8 Non so
13.a	Se Sì: Specificare il tipo di endoscopia: _____		<input type="checkbox"/> 1 Ambulatoriale	<input type="checkbox"/> 2 Con ricovero	
14	E' stato ospedalizzato (incluso Day Hospital)?		<input type="checkbox"/> 1 Sì	<input type="checkbox"/> 0 No	<input type="checkbox"/> 8 Non so
14.a	Se Sì: Ospedale _____ Reparto _____		Quando giorno mese anno		
14.b	Ospedale _____ Reparto _____		Quando giorno mese anno		
14.c	Ospedale _____ Reparto _____		Quando giorno mese anno		
15	Ha fatto uso di droghe?		<input type="checkbox"/> 1 Sì	<input type="checkbox"/> 0 No	<input type="checkbox"/> 8 Non so
15.a	Se Sì, modalità di assunzione _____		<input type="checkbox"/> 1 endovenosa	<input type="checkbox"/> 2 inalazione	<input type="checkbox"/> 3 entrambe
15.b	Se Sì, ha mai avuto contatti con un SERT?		<input type="checkbox"/> 1 Sì	<input type="checkbox"/> 0 No	<input type="checkbox"/> 8 Non so
16	Ha avuto un trattamento dentario?		<input type="checkbox"/> 1 Sì	<input type="checkbox"/> 0 No	<input type="checkbox"/> 8 Non so
17	Si è fatto i buchi alle orecchie o altro tipo di piercing?		<input type="checkbox"/> 1 Sì	<input type="checkbox"/> 0 No	<input type="checkbox"/> 8 Non so
18	Si è fatto un tatuaggio?		<input type="checkbox"/> 1 Sì	<input type="checkbox"/> 0 No	<input type="checkbox"/> 8 Non so
19	Le è stata praticata l'ago puntura?		<input type="checkbox"/> 1 Sì	<input type="checkbox"/> 0 No	<input type="checkbox"/> 8 Non so
20	Si è rasato dal barbiere?		<input type="checkbox"/> 1 Sì	<input type="checkbox"/> 0 No	<input type="checkbox"/> 8 Non so
21	E' stato dal callista o dal manicure?		<input type="checkbox"/> 1 Sì	<input type="checkbox"/> 0 No	<input type="checkbox"/> 8 Non so



QUESTIONARIO DI UN CASO NOTIFICATO
DI EPATITE VIRALE ACUTA (SEIEVA)

22	E' stato emodializzato?	<input type="checkbox"/> 1 Sì	<input type="checkbox"/> 0 No	<input type="checkbox"/> 8 Non so
23	Le è stata somministrata almeno una dose di vaccino per l'epatite B?	<input type="checkbox"/> 1 Sì, una dose	<input type="checkbox"/> 0 No	<input type="checkbox"/> 8 Non so
		<input type="checkbox"/> 2 Sì, due dosi		
		<input type="checkbox"/> 3 Sì, tre dosi		
23.a	Se Sì: 1° dose - tipo vaccino _____ data	giorno	mese	anno
23.b	2° dose - tipo vaccino _____ data	giorno	mese	anno
23.c	3° dose - tipo vaccino _____ data	giorno	mese	anno
24	Durante i 6 mesi prima dell'inizio della sua epatite un suo familiare, convivente, amico, compagno di scuola o di lavoro ha avuto l'epatite?	<input type="checkbox"/> 1 Sì	<input type="checkbox"/> 0 No	<input type="checkbox"/> 8 Non so
24.a	Se Sì, la loro malattia è iniziata meno di due mesi prima della sua?	<input type="checkbox"/> 1 Sì	<input type="checkbox"/> 0 No	<input type="checkbox"/> 8 Non so
25	Ha un convivente o partner sessuale HBsAg (Antigene Australia) positivo?	<input type="checkbox"/> 1 Sì	<input type="checkbox"/> 0 No	<input type="checkbox"/> 8 Non so
25.a	Se Sì: Tipo di relazione _____			
25.b	Era a conoscenza che un componente della sua famiglia (o il suo partner) era portatore di HBsAg prima che Lei avesse l'epatite acuta?	<input type="checkbox"/> 1 Sì	<input type="checkbox"/> 0 No	<input type="checkbox"/> 8 Non so
25.c	Se Sì, perché non si era vaccinato?	<input type="checkbox"/> 1 Non ero sicuro dell'efficacia		
		<input type="checkbox"/> 2 Paura degli effetti collaterali		
		<input type="checkbox"/> 3 Non sapeva a quale struttura rivolgersi		
		<input type="checkbox"/> 4 Altro _____		
26	Ha un convivente o partner sessuale anti-HCV positivo?	<input type="checkbox"/> 1 Sì	<input type="checkbox"/> 0 No	<input type="checkbox"/> 8 Non so
27	Ha un convivente tossicodipendente?	<input type="checkbox"/> 1 Sì	<input type="checkbox"/> 0 No	<input type="checkbox"/> 8 Non so
28	Durante i 6 mesi prima dell'inizio della sua malattia ha avuto partner sessuali?	<input type="checkbox"/> 1 Sì	<input type="checkbox"/> 0 No	<input type="checkbox"/> 7 Preferisco non rispondere
28.a	Se Sì, con quanti partner ha avuto rapporti sessuali?	N. Partner	maschili	femminili
29	Ha avuto un partner sessuale tossicodipendente negli ultimi 6 mesi?	<input type="checkbox"/> 1 Sì	<input type="checkbox"/> 0 No	<input type="checkbox"/> 8 Non so
30	Durante i 6 mesi prima dell'inizio della sua malattia ha avuto rapporti occasionali?	<input type="checkbox"/> 1 Sì	<input type="checkbox"/> 0 No	<input type="checkbox"/> 8 Non so
30.a	Se Sì, ha utilizzato il profilattico	<input type="checkbox"/> 1 Sempre	<input type="checkbox"/> 2 Occasionalmente	<input type="checkbox"/> 3 Mai
31	Quante persone vivono nella sua casa, Lei incluso?	N. Persone		
32	Vi sono bambini che frequentano un asilo nido o una scuola materna?	<input type="checkbox"/> 1 Sì	<input type="checkbox"/> 0 No	<input type="checkbox"/> 8 Non so
33	E' donatore periodico di sangue?	<input type="checkbox"/> 1 Sì	<input type="checkbox"/> 0 No	<input type="checkbox"/> 8 Non so
34	In passato ha eseguito un test per l'HIV?	<input type="checkbox"/> 1 Sì	<input type="checkbox"/> 0 No	<input type="checkbox"/> 7 Preferisco non rispondere
34.a	Se Sì, è risultato positivo al test per l'HIV?	<input type="checkbox"/> 1 Sì	<input type="checkbox"/> 0 No	<input type="checkbox"/> 8 Non so
VALORI MASSIMI DEI SEGUENTI PARAMETRI DI LABORATORIO				
35	AST ALT Bilirubina Totale , Bilirubina Diretta , INR ,			
36	RISULTATI DI LABORATORIO Data del prelievo di sangue	giorno	mese	anno
37	E' positivo per HBsAg?	<input type="checkbox"/> 1 Sì	<input type="checkbox"/> 0 No	<input type="checkbox"/> 8 Non ricercato
38	E' positivo per IgM anti-HBc?	<input type="checkbox"/> 1 Sì	<input type="checkbox"/> 0 No	<input type="checkbox"/> 8 Non ricercato
39	E' positivo per IgM anti-Epatite A?	<input type="checkbox"/> 1 Sì	<input type="checkbox"/> 0 No	<input type="checkbox"/> 8 Non ricercato
40	E' positivo per IgM anti-Delta?	<input type="checkbox"/> 1 Sì	<input type="checkbox"/> 0 No	<input type="checkbox"/> 8 Non ricercato
41	E' positivo per anti-HCV?	<input type="checkbox"/> 1 Sì	<input type="checkbox"/> 0 No	<input type="checkbox"/> 8 Non ricercato
42	E' positivo per HCV-RNA?	<input type="checkbox"/> 1 Sì	<input type="checkbox"/> 0 No	<input type="checkbox"/> 8 Non ricercato
42.a	Se Sì, livello viremia			
43	E' positivo per IgM anti-Epatite E?	<input type="checkbox"/> 1 Sì	<input type="checkbox"/> 0 No	<input type="checkbox"/> 8 Non ricercato
44	DECORSO CLINICO Encefalopatia	<input type="checkbox"/> 1 Sì	<input type="checkbox"/> 0 No	<input type="checkbox"/> 8 Non so
45	Fulminante	<input type="checkbox"/> 1 Sì	<input type="checkbox"/> 0 No	<input type="checkbox"/> 8 Non so
46	Trapianto di fegato	<input type="checkbox"/> 1 Sì	<input type="checkbox"/> 0 No	<input type="checkbox"/> 8 Non so
47	Decesso	<input type="checkbox"/> 1 Sì	<input type="checkbox"/> 0 No	<input type="checkbox"/> 8 Non so
47.a	In caso di decesso indicare la data	giorno	mese	anno
	Causa iniziale: _____			
48	Commenti: _____			
	Firma dell'intervistatore _____			

5. L'EPIDEMIOLOGIA DELL'EPATITE A

L'epatite A è una patologia estremamente diffusa in tutto il mondo e per stimare l'impatto di malattia associata all'infezione da HAV si possono utilizzare come fonti di informazioni:

- la sorveglianza sierologica, per stimare la prevalenza delle infezioni del passato;
- i sistemi di sorveglianza, che permettono di calcolare l'incidenza di morbidità e mortalità da epatiti acute da HAV.

L'OMS nel suo *position paper* (28. <https://www.who.int>) sulle epatiti da HAV, definisce sulla base della sieroprevalenza i livelli di endemia, e li divide in:

- Alto: $\geq 90\%$ fino ai 10 anni
- Intermedio: $\geq 50\%$ fino ai 15enni, con $< 90\%$ ai 10 anni.
- Basso: $\geq 50\%$ all'età di 30 anni, con $< 50\%$ all'età di 15 anni
- Molto basso: $< 50\%$ fino ai 30 anni

Questa stima si basa sulla rilevazione delle IgG anti-HAV ematiche, che come detto possono rimanere elevate nel corso di tutta la vita.

Tradizionalmente vengono descritte 3 categorie geografiche di endemicità correlate alla prevalenza di casi di epatite A:

1. le aree ad alta endemicità (Paesi in via di sviluppo), che presentano scarse condizioni igienico-sanitarie e nelle quali la maggior parte delle infezioni si verificano nei bambini sotto i 10 anni e sono spesso asintomatiche. In queste zone solitamente l'infezione non si presenta in forma epidemica, poiché gli adolescenti e gli adulti risultano immuni e costituiscono una barriera alla diffusione dell'infezione;
2. le aree ad endemicità intermedia, che includono i Paesi in via di sviluppo con condizioni igienico-sanitarie variabili. In queste zone, l'infezione si manifesta soprattutto negli adulti e si possono verificare anche importanti epidemie;
3. le aree a bassa endemicità, che comprendono i Paesi industrializzati con buone condizioni igienico-sanitarie. In questi Paesi, l'infezione colpisce maggiormente gli adolescenti e gli adulti. I principali fattori di rischio sono rappresentati dai viaggi in zone endemiche e dal consumo di alimenti (soprattutto frutti di mare) o acqua contaminati.

Alcuni focolai epidemici si sono sviluppati, negli ultimi anni, tra soggetti appartenenti a gruppi a rischio, come chi fa uso di droghe per via endovenosa e omosessuali (*“man who have sex with man”*- *msm*). (Fig. 6)

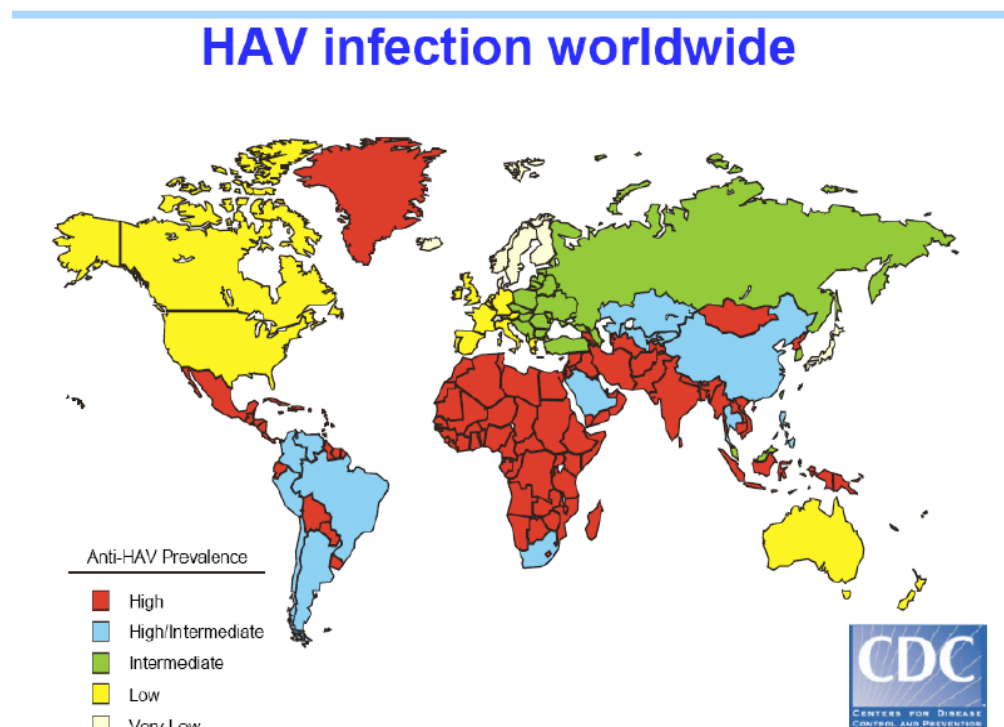


Fig. 6. Prevalenza nella popolazione mondiale di anticorpi anti-HAV.

Tra il 2012-2016, 30 paesi UE/EEA hanno segnalato annualmente tra 12500 e 14100 casi di epatite A confermati (fonte: Sistema europeo di sorveglianza (TESSy, 2017). Nel 2012-2016, la Romania ha rappresentato il 35% di tutti i casi nell'UE/EEA; mentre la Bulgaria ha riportato il 15% di tutti i casi. I casi sono stati segnalati in tutte le fasce di età, la maggior parte delle infezioni da epatite A si è registrata in bambini di 5-14 anni (36%), seguiti da giovani adulti 25-44 anni (21%). I casi maschili erano più frequenti dei casi femminili, in particolare nei gruppi di età 15-24 e 25-44 anni (58%). La maggior parte (89%) delle infezioni è autoctona. Ventidue paesi UE/EEA hanno segnalato il probabile paese di infezione per alcuni o tutti i casi relativi ai viaggi. I paesi di infezione più frequentemente segnalati nel 2012-2016 sono stati l'Egitto (10%), il Marocco (10%) e la Turchia (8%). Il Marocco era tra le prime tre destinazioni in sei paesi (Lussemburgo,

Paesi Bassi, Polonia, Portogallo, Slovenia e Spagna); questi sei paesi hanno rappresentato il 71% di tutti i casi segnalati dal Marocco.

A partire dal 14 maggio 2018, 12 paesi UE/EEA (Belgio, Croazia, Cipro, Repubblica ceca, Estonia, Finlandia, Islanda, Lituania, Malta, Paesi Bassi, Norvegia e Svezia) hanno notificato 1873 casi per il 2017. Nove paesi hanno segnalato le destinazioni di viaggio di 232 casi viaggio-associati. Di questi, 23 casi (10%), notificati nei Paesi Bassi e in Svezia, hanno riportato una storia di viaggio in Marocco.

I casi sono stati identificati con l'ordinamento di un frammento virale del RNA nella regione di sovrapposizione VP1/P2A. I ceppi di HAV con le differenze di 1 – 2 nucleotide in questa regione del RNA sono probabili essere associati con un'origine comune. Sulla base di recenti e storici risultati molecolari in viaggiatori di ritorno dal Marocco e in un residente in Marocco, è molto probabile che questi ceppi siano stati in circolazione in Marocco da almeno l'anno 2011 e che la trasmissione in Marocco sia tuttora in corso.

I due ceppi di epidemia descritti in questo documento non sono correlati ai ceppi associati al focolaio 2016 – 2018 nell' UE che ha sproporzionatamente interessato gli uomini che hanno rapporti sessuali con uomini (MSM).

Da giugno 2016, un numero significativo di Paesi dell' UE sta segnalando casi di infezione di epatite A che colpiscono per lo più gli uomini che hanno rapporti sessuali con altri uomini (MSM).

Finora i casi sono stati segnalati da: Austria, Belgio, Croazia, Repubblica Ceca, Danimarca, Estonia, Finlandia, Francia, Germania, Grecia, Irlanda, Italia, Lettonia, Lussemburgo, Malta, Paesi Bassi (fino al 2018 luglio), Norvegia, Portogallo, Slovenia, Spagna, Svezia e Regno Unito (Fig.7).

Una delle principali misure di prevenzione in questo contesto è la vaccinazione contro l'epatite A dei soggetti MSM e i loro stretti contatti, secondo le raccomandazioni nazionali.

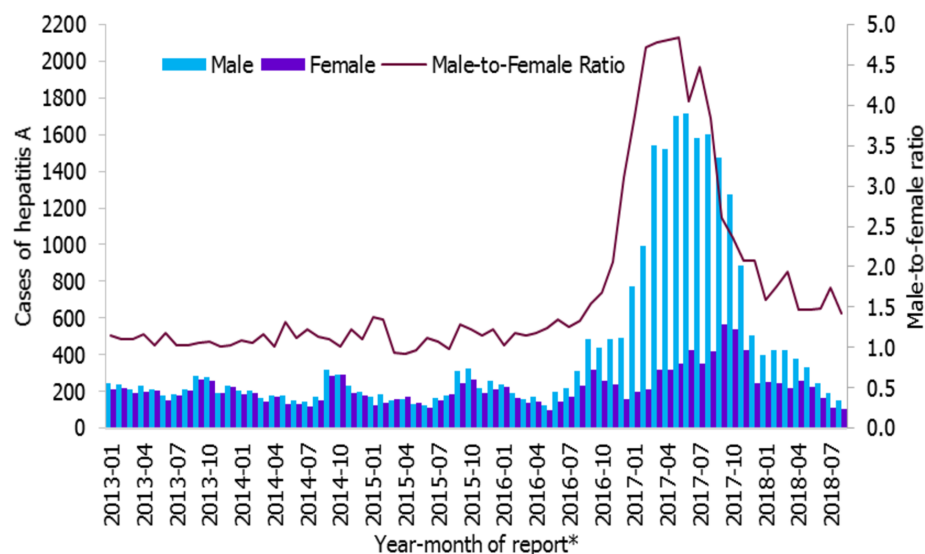


Fig.7. Istogramma dei casi di epatite A registrati in Europa da Gennaio 2013 a Luglio 2018 suddivisi per sesso (29. *Epidemiological update: Hepatitis A outbreak in the EU/EEA mostly affecting men who have sex with men, ECDC 2018*).

L'ECDC il 12 Settembre 2018 ha redatto un aggiornamento epidemiologico relativo all'epidemia di epatite A in Europa tra MSM (29. *Epidemiological update: Hepatitis A outbreak in the EU/EEA mostly affecting men who have sex with men, ECDC 2018*).

Dall'ultimo aggiornamento epidemiologico di questa epidemia di epatite A “multi-paese”, pubblicato il 23 marzo 2018, 19 paesi dell'UE/EEA (Austria, Belgio, Croazia, Danimarca, Estonia, Finlandia, Francia, Germania, Grecia, Irlanda, Italia, Lussemburgo, Malta, Paesi Bassi, Portogallo, Slovenia, Spagna, Svezia e Regno Unito) hanno segnalato 364 nuovi casi confermati dall'epidemia. I casi confermati dai focolai sono residenti UE/EEA con genotipo IA confermato dalle indagini di laboratorio e virus HAV con sequenza omologa $\geq 99,3\%$ a uno dei tre ceppi epidemici di genotipo IA di tipo HAV (VRD_521_2016; RIVM-HAV16-090; V16 -25801) basato su frammenti sovrapposti nella regione VP1-2A.

A partire dal 7 settembre 2018, il numero di casi confermati dai focolai segnalati in 22 paesi dell'UE/EEA è pari a 4475.

Per 4411 di questi casi, sono disponibili informazioni sul genere, con un rapporto uomo-donna (M/F) di 6,8. Una netta riduzione del rapporto M/F si è osservato dopo maggio 2017, quando ha raggiunto 11,8. Il rapporto M/F per i casi riportati da maggio ad agosto

2018 era 4.0. Non sono stati segnalati altri ceppi che circolano ampiamente tra gli uomini che hanno rapporti sessuali con uomini (MSM) a parte i tre ceppi epidemici e le loro varianti simili (Fig.8).

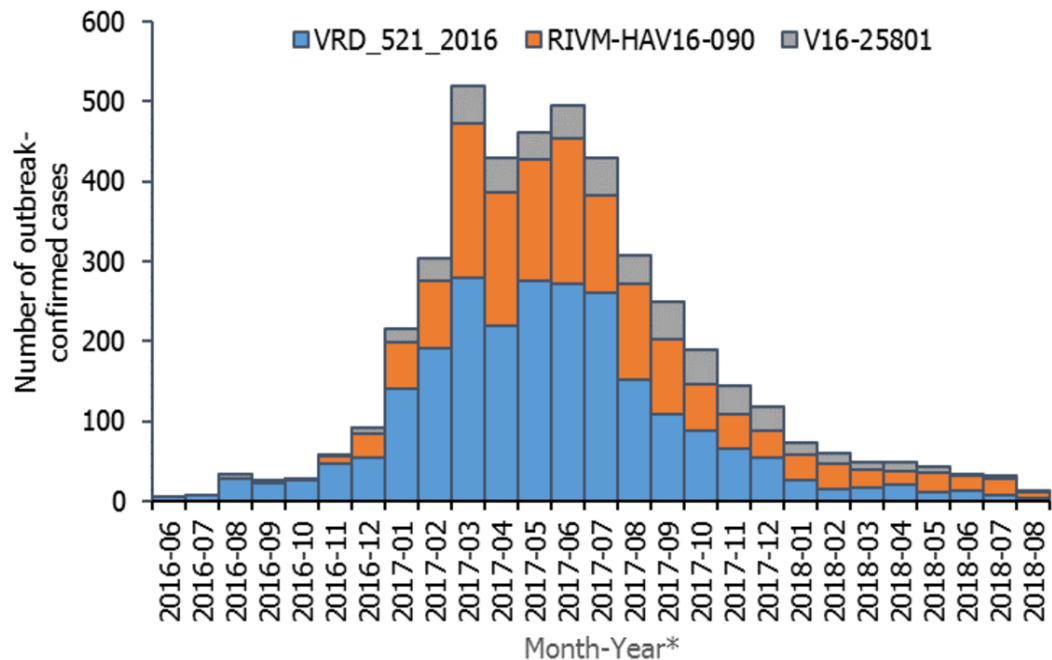


Fig. 8 Distribuzione di epatite A casi confermati dall'epidemia per mese di esordio e sequenza genetica, da giugno 2016 ad agosto 2018, dal 7 settembre 2018, UE/EEA (n=4475; 15 casi mancanti) (29. *Epidemiological update: Hepatitis A outbreak in the EU/EEA mostly affecting men who have sex with men, ECDC 2018*).

La principale misura di prevenzione in questo contesto è la vaccinazione contro l'epatite A in MSM e per i loro stretti contatti, seguendo le raccomandazioni nazionali. I gruppi di MSM sono a più alto rischio e quindi sono da considerare prioritari per la vaccinazione.

La disponibilità di vaccini contro l'epatite A nell' UE è attualmente limitata, con alcuni paesi che segnalano carenze in misura minore o maggiore dall'ultimo aggiornamento, tra cui Danimarca, Francia, Germania e Paesi Bassi.

Si suggerisce che la vaccinazione possa essere promossa e offerta a MSM che intendono partecipare ai *Festival Pride*, dove potrebbe esserci una maggiore probabilità di contatto con individui infetti da epatite A. Tuttavia, la disponibilità limitata di vaccini contro l'epatite A in alcuni paesi potrebbe ostacolare l'attuazione di queste misure.

Dall'ultima valutazione rapida del rischio dell'ECDC a giugno 2017, Austria, Danimarca, Francia, Germania, Italia, Norvegia, Portogallo, Spagna e Regno Unito hanno emesso nuove raccomandazioni sulla vaccinazione.

(<https://ecdc.europa.eu/en/hepatitis-a>).

5.1 L'epidemiologia Italiana

“ Negli ultimi decenni i miglioramenti delle condizioni igieniche e socio-economiche hanno contribuito a una forte diminuzione della circolazione del virus HAV in Italia, che oggi si configura come un Paese ad endemicità medio-bassa. Ad eccezione, infatti, delle epidemie associate al consumo di frutti di mare crudi, verificatesi negli anni 1992, 1994 e 1997 in alcune regioni dell'Italia meridionale, l'incidenza ha mostrato nel tempo un andamento in diminuzione, seppure non costante, scendendo sotto la soglia di 1 caso per 100.000 abitanti dal 2011.

Nel 2013 si è verificata una nuova epidemia di epatite A legata al consumo di frutti di bosco congelati, che ha colpito tutto il territorio nazionale e in particolare alcune Regioni del Nord e del Centro Italia, con un'incidenza su base annua di 2,5 casi per 100.000. La Fig. 9A mostra la curva epidemica a partire dal 2012 ed evidenzia, oltre al recente picco epidemico, anche l'epidemia, anch'essa “multistate”, verificatasi nel 2013-2014, e risultata associata al consumo di frutti di bosco contaminati”.

(30. <http://www.epicentro.iss.it/epatite/epidemiologia-italia>).

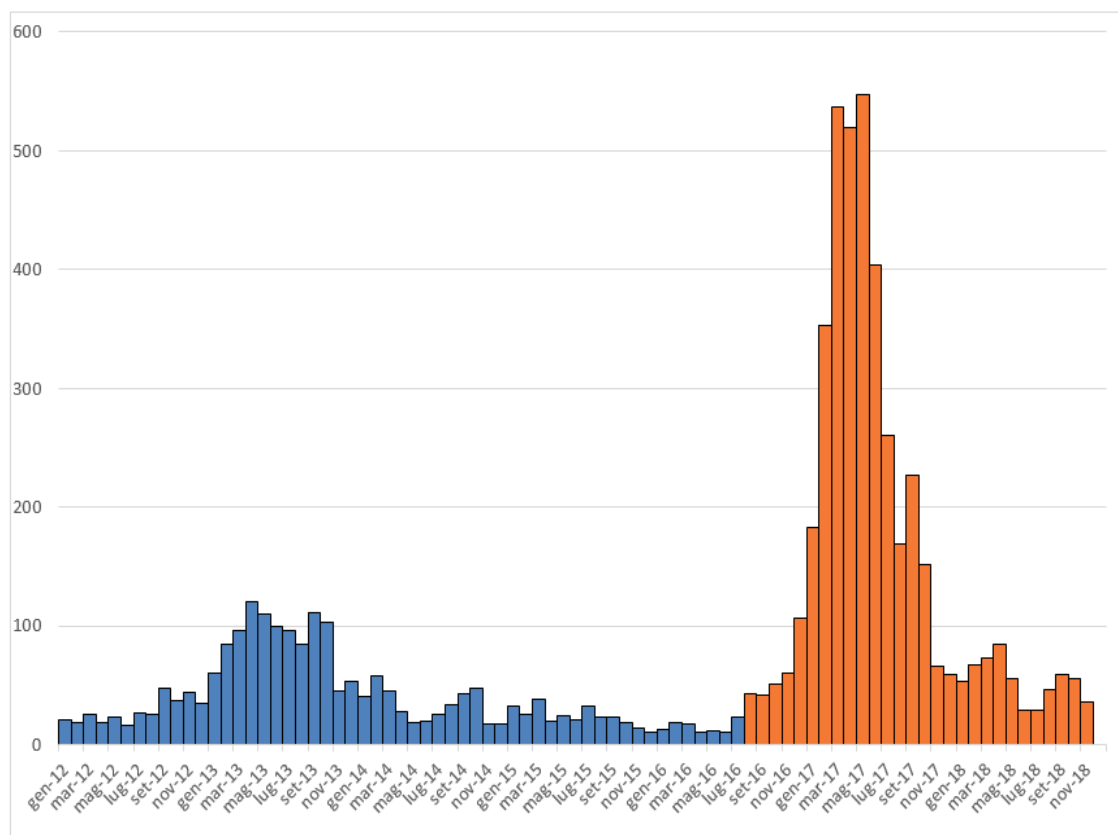


Fig. 9A. Andamento per mese di insorgenza sintomi delle segnalazioni di Epatite A, Seieva, gen 2012-nov 2018 (ottobre e novembre 2018: dati provvisori).

Nel 2016 l'incidenza annuale, stimata attraverso i dati SEIEVA, è stata di 0,8 casi per 100.000, le classi di età più colpite sono state quelle tra i 15 e i 54 anni (1,0 casi per 100.000 per le classi di età 15-24 anni e 35-54; 1,3 per la classe 25-34 anni) (Fig.9A).

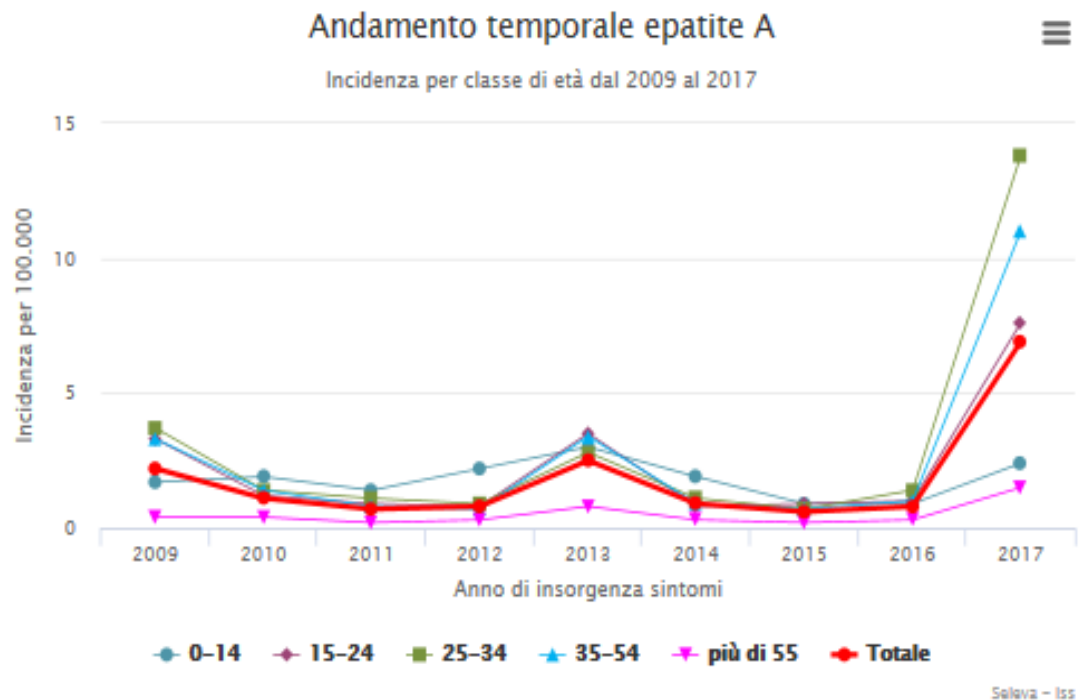


Fig.9B. Incidenza dei casi di epatite A suddivisa per classe di età dal 2009 al 2017.

Come mostra il grafico precedente, a partire dal mese di agosto 2016, nel nostro Paese, si è registrato un importante incremento dei casi di Epatite A, che da dicembre 2016 ha avuto un'ulteriore impennata.

In accordo con l'epidemia europea descritta precedentemente, in Italia, tra agosto 2016 e febbraio 2017, sono stati notificati al Seieva (Sistema epidemiologico integrato dell'epatite virale acuta) 583 casi (un numero di quasi 5 volte maggiore rispetto allo stesso periodo dell'anno precedente), con un'incidenza pari a 2,2 x 100.000 anni-persona. L'età mediana è di 34 anni e l'85% dei casi è di sesso maschile. Oltre ai fattori di rischio classicamente riconosciuti (viaggi in zone endemiche e consumo di frutti di mare), un'alta percentuale dei casi (61%) dichiara preferenze omosessuali (MSM) (31. <http://www.epicentro.iss.it/epatite/2017>).

Da un confronto regionale emerge che nei primi mesi epidemici, il maggior incremento di casi era stato osservato nel Lazio. In seguito un incremento dei casi, rispetto all'atteso, è stato riscontrato anche in altre Regioni italiane (Piemonte, Lombardia, Veneto, Liguria, Emilia-Romagna, Toscana, Marche, Lazio, Puglia). In Puglia, classificata a lungo come regione a endemia intermedia per epatite A (32. D'Amelio R, Mele A, Mariano A, Romanò L, Biselli R, Lista F, Zanetti A, Stroffolini T. *Hepatitis A, Italy. Emerg Infect Dis* 2005;11(7):1155–6), dal 1 gennaio al 28 febbraio 2017, sono stati segnalati 10 casi di epatite A, tutti in soggetti di sesso maschile di età compresa tra 28 e 49 anni. Quattro casi hanno riferito apertamente di aver avuto rapporti sessuali con altri uomini nelle 8 settimane precedenti l'inizio dei sintomi. Tre MSM avevano avuto rapporti occasionali con uomini conosciuti mediante App e siti web di dating. Sette dei dieci casi di epatite A acuta sono risultati infetti con ceppi appartenenti al sotto genotipo IA. Le sequenze virali di sei casi sono risultate altamente correlate tra loro e direttamente riconducibili al virus responsabile dei focolai epidemici tra MSM in Europa e in Italia. (33. *Rapid Risk Assessment “Casi di Epatite A tra Men who have Sex with Men in Puglia. Gennaio-Febbraio 2017”* a cura dell'Osservatorio epidemiologico, Regione Puglia).

Tuttavia, nonostante l'epidemia abbia coinvolto più Paesi, l'Italia si presenta come lo Stato europeo con il più evidente eccesso di casi.

Un aspetto da considerare è che i quattro ceppi descritti in Europa (V16-25801, VRD_521_2016, RIVM-HAV-16-069 e RIVM-HAV-16-090) non sono mai stati osservati in Italia prima di agosto 2016. La partecipazione di circa mezzo milione di persone all'Europride di Amsterdam il 29 luglio-6 agosto 2016 potrebbe aver giocato un ruolo nell'amplificazione di micro-epidemie esistenti nella comunità MSM di alcuni Paesi europei (Regno Unito, Olanda e Germania) e la conseguente diffusione dei ceppi negli altri Paesi, inclusa l'Italia.

(34. <http://www.epicentro.iss.it/epatite/EpatiteAMsm>).

L'ultimo aggiornamento del report SEIEVA, che riporta i dati dal 1 Gennaio al 30 Giugno 2018, ha registrato un numero di casi di infezione da HAV pari a 356 in tutta Italia, con una maggiore prevalenza nelle regioni Liguria e Lombardia (Fig.10)

(35. <https://www.epicentro.iss.it/epatite/bollettino/Bollettino-3-novembre-2018>).

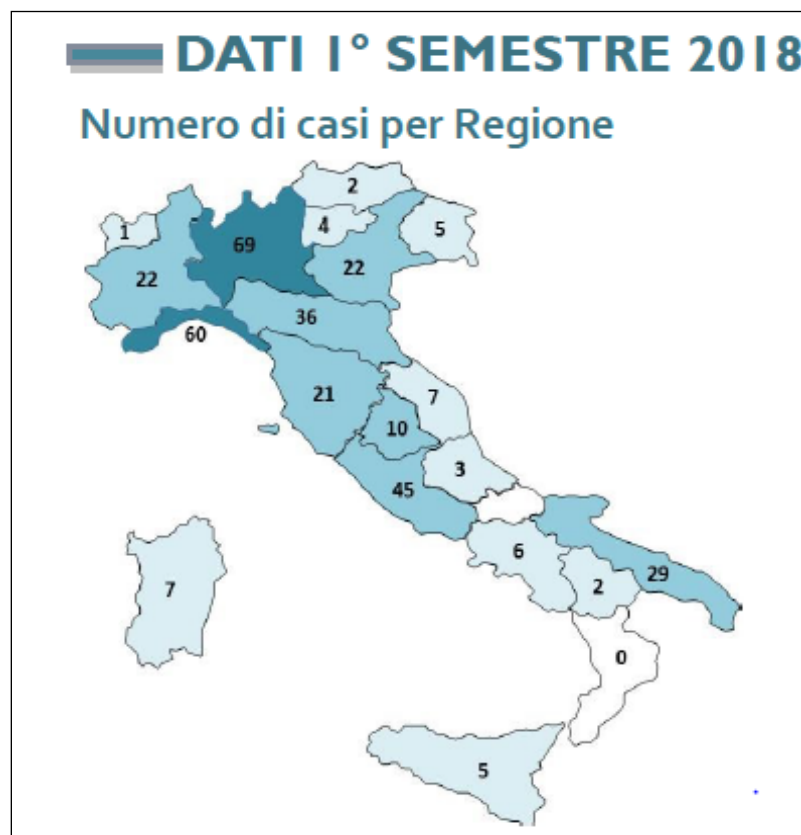


Fig.10. Numero di casi di infezione da HAV segnalati per regione dal 1 Gennaio al 30 Giugno 2018.

(35. <https://www.epicentro.iss.it/epatite/bollettino/Bollettino-3-novembre-2018>).

L'epidemia che ha colpito prevalentemente soggetti MSM durante il 2017 sembra essere in via di risoluzione, vista la riduzione del numero di casi notificati durante il primo semestre 2018.

La maggior parte dei casi di infezioni segnalati in questo periodo ha comunque riguardato prevalentemente soggetti maschi di età compresa tra i 25 e i 54 anni. Questo dato va interpretato con cautela essendo ancora provvisorio (Fig.11).

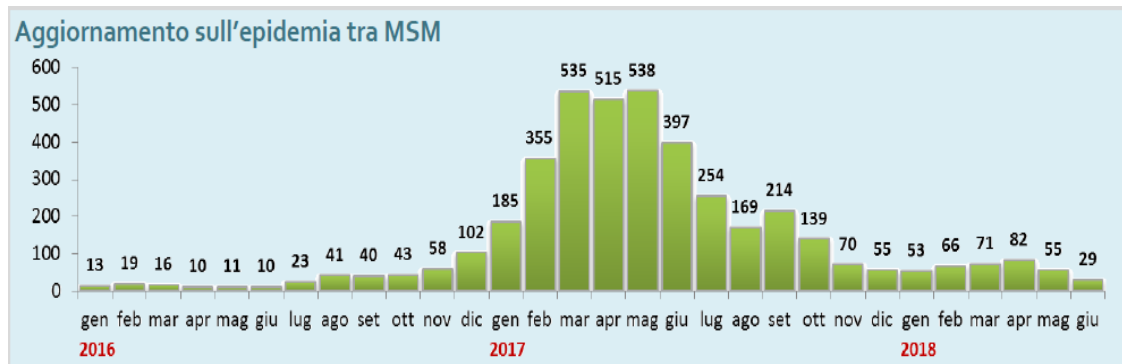


Fig.11. Distribuzione dei casi registrati tra MSM da gennaio 2016 a Giugno 2018. La distribuzione mensile dei casi notificati sembra suggerire che l'epidemia che lo scorso anno ha colpito prevalentemente soggetti MSM stia terminando, in quanto il numero di casi segnalati nel 2018 sta tornando a livelli pre-epidemici, anche se la maggior parte dei casi riguarda ancora maschi adulti tra i 25 e i 54 anni. Tali dati vanno considerati con cautela perché non definitivi.

(35. <https://www.epicentro.iss.it/epatite/bollettino/Bollettino-3-novembre-2018>).

6. OBIETTIVI DELLO STUDIO

Dall'agosto 2016 è stata segnalata una crescente incidenza di casi in Europa e in Italia, in particolare tra gli uomini che hanno rapporti sessuali con uomini (MSM), nella cui popolazione sono stati descritti numerosi cluster epidemici.

In relazione alla situazione epidemiologica presentata nei capitoli precedenti, lo studio ha l'obiettivo di definire i principali fattori di rischio dell'infezione, le caratteristiche molecolari e il pattern epidemiologico dei virus HAV circolati in Liguria, da dicembre 2016 a dicembre 2018, riportando i dati ottenuti presso il sistema di sorveglianza nazionale SEIEVA e le indagini di laboratorio effettuate presso il laboratorio di Igiene afferente al Dipartimento di Scienze della Salute dell'Università degli Studi di Genova.

7. MATERIALI E METODI

Le informazioni dei casi, raccolte attraverso il Sistema di sorveglianza nazionale, hanno incluso: caratteristiche demografiche individuali come età, sesso, professione ed esposizioni a potenziali fattori di rischio (storia di viaggi in aree endemiche, contatto con una persona itterica, comportamento sessuale, storia sul consumo di droga, tipo di cibo consumato, luogo di acquisto e consumo di cibi potenzialmente infetti).

Di 41 campioni clinici (siero e/o feci) di pazienti con diagnosi clinica di epatite A, pervenuti in laboratorio, è stato possibile effettuare i test sierologici di primo livello e l'analisi di tipizzazione molecolare del virus causante l'infezione.

L'RNA dell'HAV è stato estratto da 200µl di siero e/o feci utilizzando MagCore HF16 Automated Nucleic Acid Extractor (RBC Bioscience Corp), e successivamente eluito in 60µl (Purezza RNA: O.D A260/280 rapporto $2,0 \pm 0,2$).

Il rilevamento dell' RNA di HAV è stato eseguito mediante kit commerciale HAV Real-TM (Sacace Biotechnologies). Successivamente, l'amplificazione dell' RNA di HAV è stata eseguita mediante PCR nested-trascrizione inversa di giunzioni VP1-P2A (Chironna M, Grottola A, Lanave C, Villa E, Barbuti S, Quarto M. *Genetic analysis of HAV strains recovered from patients with acute hepatitis from Southern Italy*. J Med Virol 2003;70:343-9).

Questa regione presenta un'estrema variabilità e consente la determinazione del genotipo virale (Fig.13).

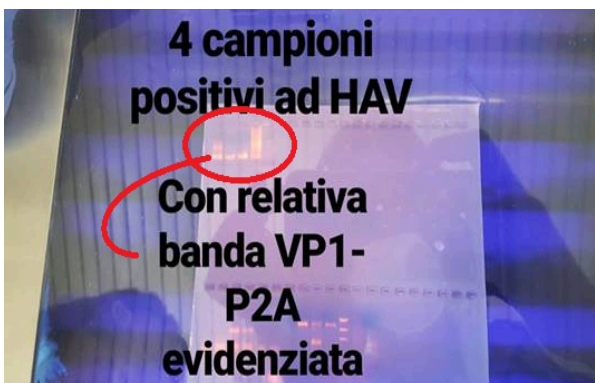


Fig 13. Valutazione della presenza di ampliconi nei vari campioni tramite elettroforesi su gel di agarosio al 1.5% dove è stata evidenziata la “banda” corrispondente alla regione VP1-P2A.

I prodotti di PCR sono stati purificati utilizzando il kit di purificazione QIAquick (Qiagen, Valencia, CA, USA). Ogni prodotto di PCR purificato è stato sottoposto a sequenziamento Sanger utilizzando il kit Big-dye Terminator v3.1 (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) e analizzato su ABI Prism 3100-Avant (Applied Biosystems).

La caratterizzazione del virus è stata eseguita mediante analisi sequenziale dopo l'allineamento delle sequenze isolate con ceppi di riferimento. La costruzione di alberi filogenetici è stata effettuata con il metodo Neighbor-Joining utilizzando il pacchetto MEGA, versione 7, della Pennsylvania State University (PA, USA).

8. RISULTATI

8.1 Descrizione epidemiologica dei casi

Da dicembre 2016 a dicembre 2018 in Liguria sono stati notificati 94 casi di epatite A (Fig.12).

La maggior parte dei casi (92/94, 97,8%) aveva età compresa tra 24 e 77 anni, mentre 2 casi avevano < 4 anni di età.

Tuttavia, 76 casi (81%) erano uomini e 11 di questi (12%) erano gestori di esercizi commerciali in ambito ristorativo.

I principali fattori di rischio sono risultati essere: il consumo di prodotti ittici (49%), il consumo di frutti di bosco (17%), i viaggi in aree endemiche per epatite A (17%), i viaggi in aree endemiche italiane (16%), la coabitazione con soggetti infettati da virus dell'HAV (16%), gli MSM coinfecti HIV (6%), e le nuove diagnosi HIV (1%) (Fig.14).

L'associazione tra sesso e età come fattori di rischio non è risultata significativa. La profilassi post-esposizione è stata eseguita in 58 (62%) pazienti, mentre non è stata offerta a 18 (19%) pazienti per la mancanza della disponibilità di preparati vaccinali. Infine, per 18 (19%) pazienti non è stato possibile raccogliere il dato relativo alla profilassi post-esposizione.

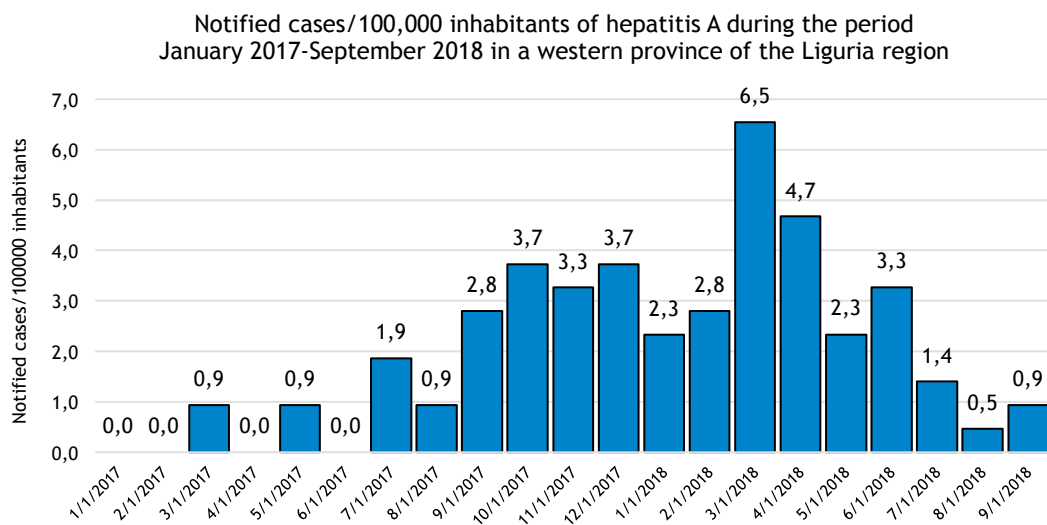


Fig.12. Casi notificati/100.000 abitanti per Epatite A nella provincia di Imperia da Gennaio 2017 a Settembre 2018.

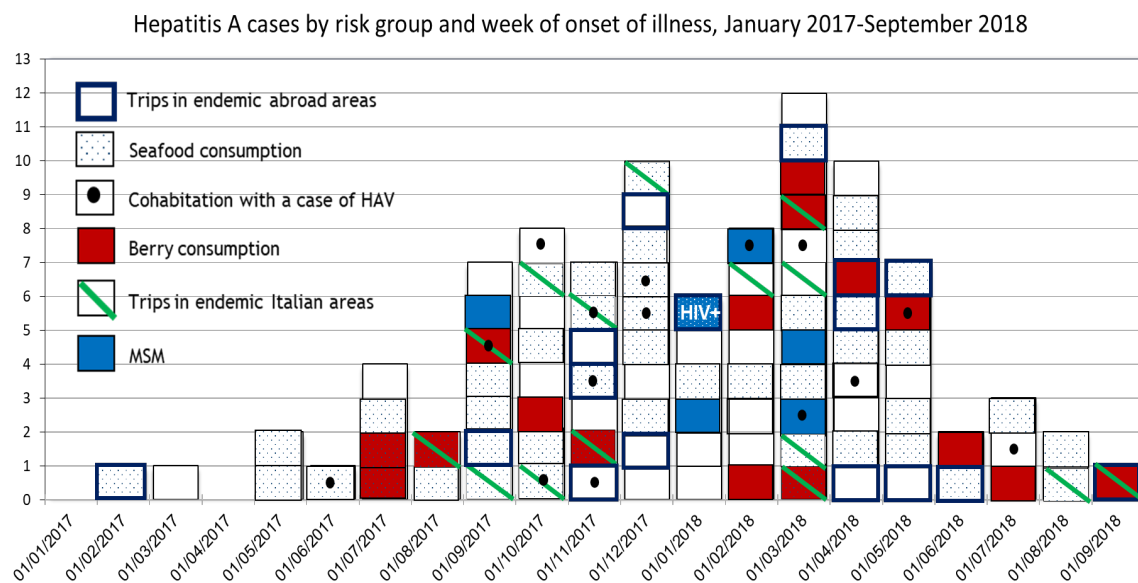


Fig.14. Andamento dei casi di epatite A nella provincia di Imperia da Gennaio 2017 a Settembre 2018.

8.2 Caratterizzazione molecolare

In 41/65 (63%) campioni totali pervenuti in laboratorio è stato rilevato l'RNA del virus dell'epatite A.

A 40/41 campioni (97,6%), inseguito alla caratterizzazione molecolare, è stato assegnato il genotipo A sottotipo I, solo 1 campione è risultato appartenere al genotipo B sottotipo I. L'analisi molecolare della regione VP1-P2A ha rivelato la circolazione di 5 ceppi virali: 33/41 (80,5%) virus hanno mostrato sequenze identiche di VP1-P2A con ceppi rilevati tra MSM durante un'epidemia avvenuta a Barcellona nel 2017, 4 ceppi erano simili a quelli isolati durante un focolaio tra MSM a Taiwan nel 2015, 2 isolati mostravano un'elevata omologia condivisa con una variante HAV precedentemente rilevata in Italia durante un focolaio di origine alimentare multinazionale nel 2013, 1 ceppo ha presentato omologia con un isolato HAV recuperato da pazienti con epatite acuta in Sud Italia. Un virus ha mostrato il genotipo 1B ed è stato rilevato in un caso sporadico.

La distribuzione spaziale, temporale e geografica dei casi è stata riportata in Fig.15 e in Fig.16.

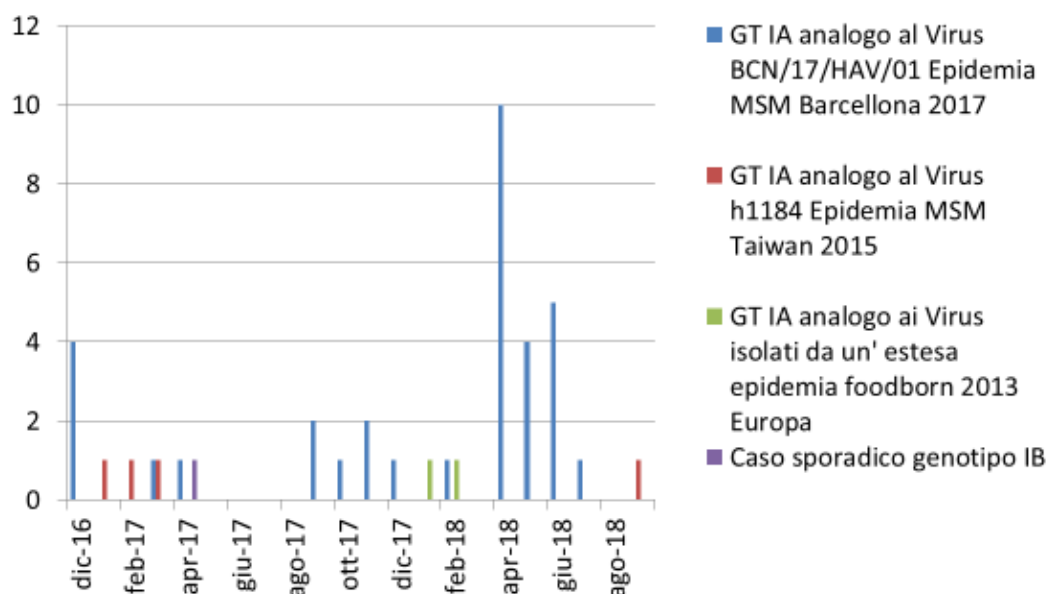


Fig.15. Distribuzione temporale dei casi di infezione da HAV in Liguria da dicembre 2016 a ottobre 2018.

Sono stati identificati due gruppi epidemici di pazienti con contatti familiari, mentre per la maggior parte dei pazienti infettati dalle stesse varianti e con una stretta insorgenza clinica, è stata suggerita una fonte comune di esposizione. La prevalenza maggiore era tra i maschi (85%) con un'età media di 44 anni.

L'analisi filogenetica delle sequenze nucleotidiche di HAV, ottenute dal processamento dei campioni clinici, ha permesso di definire la circolazione di 5 ceppi virali differenti in corrispondenza dei seguenti cluster epidemici:

1. Family cluster december 2016, Imperia Outbreak December 2017-January 2018, Imperia Outbreak April- June 2018. Per questi cluster, la sequenza di riferimento è BCN17/HAV/01.
2. Family cluster February-March 2017. Cluster nel quale le sequenze di riferimento sono quelle dell'epidemia in Taiwan del 2015 (es. 20251215sewageF).
3. 2 virus isolati in campioni provenienti da territorio genovese hanno trovato similitudine filogenetica con le sequenze appartenenti alla Large Multicountry European foodborne-Outbreak 2013.
4. 1 virus di genotipo IB sporadico.
5. 1 virus, sempre genotipo IA, sporadico ed omologo ad una variante isolata nel Sud Italia.

(Fig.17).

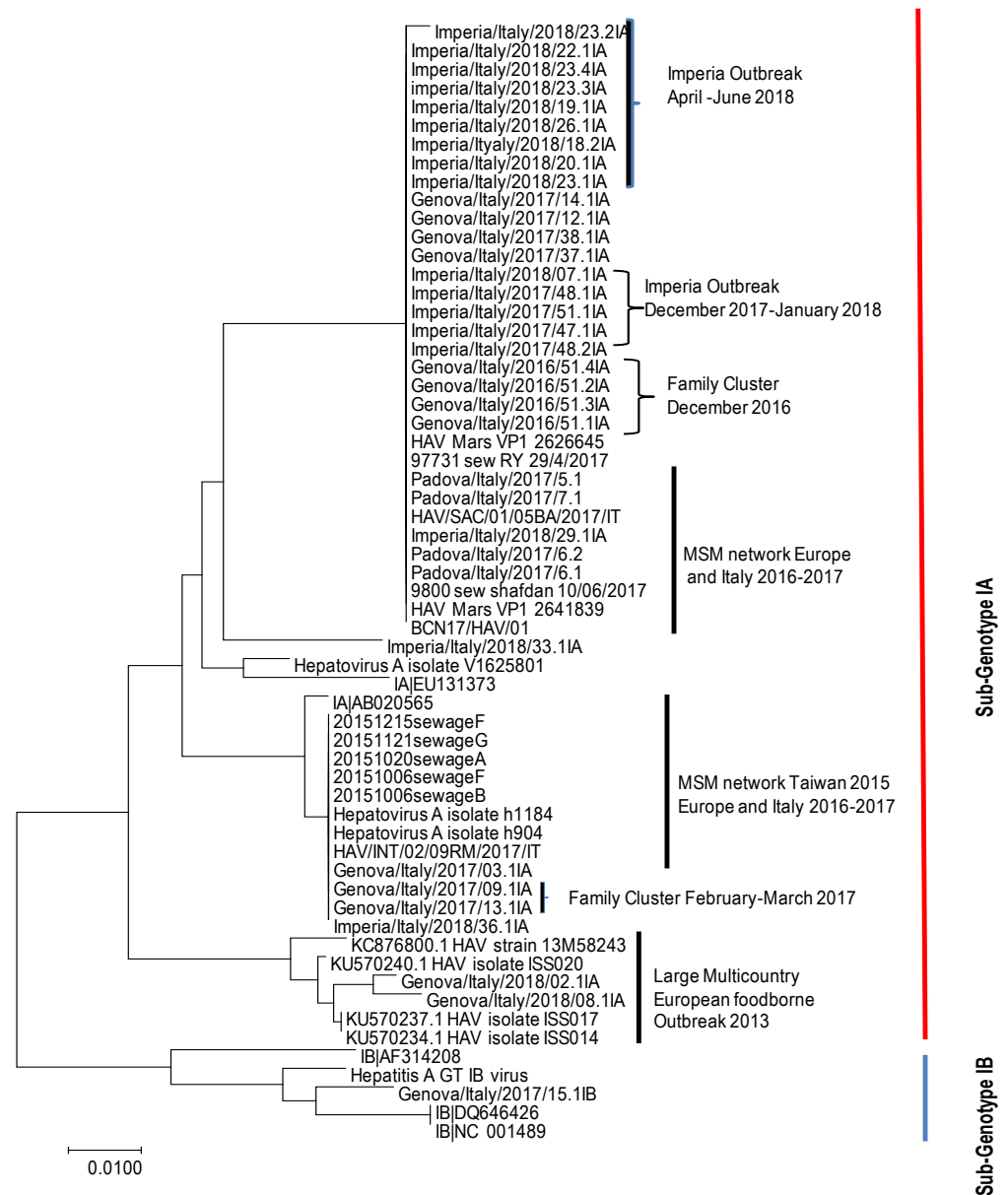


Fig.17. Analisi filogenetica delle sequenze ottenute per la regione VP1-2A condotta con il metodo Neighbor-Joining, utilizzando il software Mega Package, versione 7.0. Le distanze evolutive sono espresse come numero di sostituzioni nucleotidiche per sito.

9. CONCLUSIONI

In Italia, nel periodo agosto 2016-novembre 2018, sono stati notificati al SEIEVA (Sistema Epidemiologico Integrato dell'Epatite Virale Acuta) 4014 casi; nel solo 2017 i casi notificati sono stati 3138 (rispetto ai 274 casi registrati nel 2015), con un'incidenza pari a 7,0 per 100.000 anni-persona. Il picco epidemico si è registrato nei mesi tra marzo e maggio 2017, con oltre 500 casi mensili.

Il quadro epidemiologico delle infezioni da epatite A in Liguria è stato caratterizzato negli ultimi due anni dalla circolazione simultanea di diverse varianti, responsabili sia della vasta epidemia che ha colpito la provincia di Imperia sia di casi sporadici o di piccoli cluster familiari, con un'alta prevalenza del genotipo IA.

Dal 1 Gennaio al 30 giugno 2018 la Liguria, insieme alla Lombardia, è risultata, secondo i dati raccolti dall' Istituto Superiore di Sanità, la regione con il maggior numero di casi di epatite A notificati.

In particolare, la maggior parte dei virus è risultato appartenere alla stessa variante responsabile di un cluster epidemico verificatosi ad Imperia nel corso del 2017. Questo virus risulta omologo a ceppi isolati nel corso del 2017 in altre regioni Italiane (Puglia, Lazio e Lombardia) ed è filogeneticamente correlato a ceppi responsabili dei cluster epidemici nella popolazione MSM (*“Men who have Sex with Men”*) in Europa.

Nonostante l'epidemia abbia coinvolto più Paesi europei, l'Italia si presenta come lo Stato europeo con il maggior numero di casi registrati, rispetto agli anni precedenti il 2016.

Un aspetto da considerare è che i quattro ceppi descritti in Europa non sono mai stati osservati in Italia prima del mese di agosto 2016.

Sebbene, al momento, non si ravvisino particolari condizioni di rischio per una recrudescenza della malattia nella popolazione generale, appare concreto il rischio della sua diffusione nelle comunità di MSM italiane.

La partecipazione di circa mezzo milione di persone all'*Europride* di Amsterdam il 29 luglio e 6 agosto 2016 e all'*Europride* spagnolo del 2017 potrebbe aver giocato un ruolo cruciale nell'amplificazione di micro-epidemie esistenti nella comunità MSM di alcuni Paesi europei (Regno Unito, Olanda e Germania) e la conseguente diffusione dei ceppi negli altri Paesi, inclusa l'Italia.

Appare quindi evidente la necessità di ribadire che la vaccinazione è fortemente raccomandata per gli MSM e che quindi è necessario promuovere un'offerta attiva e gratuita della vaccinazione contro l'epatite A (o se necessario utilizzare vaccini combinati contro l'epatite A e B), attraverso il coinvolgimento di associazioni specifiche, o altri canali target per questa popolazione.

Le misure di prevenzione più efficaci sono la sorveglianza sanitaria dei casi e la vaccinazione dei contatti stretti (compresi i partner sessuali) di casi probabili e confermati di epatite A.

La vaccinazione preventiva è fortemente raccomandata nei soggetti HIV+, HBV+ e HCV+ o affetti da altre malattie sessualmente trasmissibili e nei MSM.

Nel 2018 si è osservato un notevole calo nel numero di casi notificati mensilmente al Seieva, ma la situazione epidemiologica non è ancora tornata completamente ai livelli pre-epidemici, in linea con l'osservazione di ceppi epidemici tutt'ora circolanti in molti Paesi europei, tra cui l'Italia.

Come suggerito dalla letteratura scientifica, cibo e acqua contaminati, viaggi in zone endemiche e convivenza con soggetti affetti da epatite A conclamata, sono le comuni vie di trasmissione e anche i nostri dati preliminari confermano queste ipotesi.

Tuttavia, la percentuale più alta di infezioni in soggetti di sesso maschile, rispetto a quelli di sesso femminile, rilevata dall'attività di sorveglianza sul territorio ligure, suggerisce che le pratiche sessuali tra maschi potrebbero essere una delle vie di trasmissione più implicate, ma questi dati non sono supportati dal numero di MSM rilevati nella sorveglianza dei casi di malattia registrati in Liguria.

Probabilmente questo è dovuto alla mancanza di raccolta dei dati o all'omissione da parte del paziente sulla possibilità di contagio attraverso l'esposizione sessuale con altri soggetti di sesso maschile.

Appare evidente, la necessità di ulteriori analisi per comprendere meglio le cause reali e promuovere così strategie mirate, tra cui una sorveglianza virologica, epidemiologica e ambientale sistematica, una strategia di vaccinazione specifica per le persone ad alto rischio, campagne educative e misure di controllo.

Risulta fondamentale, per quanto detto, l'attività di integrazione tra i dati epidemiologici e i dati di caratterizzazione molecolare dei ceppi virali circolanti al fine di definire le dinamiche di trasmissione e il monitoraggio territoriale dell'evoluzione virale.

Bibliografia

1. Protocollo, luglio 2017. Sistema Epidemiologico Integrato dell'Epatite Virale Acuta (SEIEVA). Istituto Superiore di Sanità.
2. Ansaldi et al. 2007. Molecular epidemiology and case-control approaches for management of an outbreak of hepatitis A in Liguria, Italy.
3. www.epicentro.iss.it/epatite/Epidemiologia-Mondo.
4. www.epicentro.iss.it/problemi/epatite/Epidemiologiaitalia.asp.
5. Circolare del 26/07/2017 del Ministero della Salute, Aggiornamento delle raccomandazioni di prevenzione e immunoprofilassi in relazione alla epidemia di Epatite A.
6. Gordon et al., 1947 J Am Med Assoc. Recovery of poliomyelitis virus from the throat during the incubation period.
7. Minor PD. 1991 J Gen Viro. Antigenic structure of chimeras of type 1 and type 3 polioviruses involving antigenic sites 2, 3 and 4.
8. Lee KK, Beyer-Blodget J. West J Med. 2000. Screening travelers for hepatitis A antibodies: an observational cost-comparison study of vaccine use).
9. Hollinger et al., 1996, Trasfusione. Donor levels of serum alanine aminotransferase activity and antibody to hepatitis B core antigen associated with recipient hepatitis C and non-B, non-C outcomes.
10. Vaughan et al., 2014. Infect. Genet. Evol. Hepatitis A virus: host interactions, molecular epidemiology and evolution.
11. Sanchez et al., 2007, Lett. Appl. Microbio. Hepatitis A virus detection in food: current and future prospects.
12. Robertson et al., 1992. J. Gen. Virol. Genetic relatedness of hepatitis A virus strains

recovered from different geographical regions.

13. Costa-Mattioli et al., 2002. J. Virol. Molecular evolution of hepatitis A virus: a new classification based on the complete VP1 protein.

14. Desbois et al., 2010. J.Clin Microbiol. Epidemiology and genetic characterization of hepatitis A virus genotype IIA.

15. Lemon et al, 2017 Type A viral hepatitis: A summary and update on the molecular virology, epidemiology, pathogenesis and prevention.

16. Peersen, 2017 - Picornaviral Polymerase Structure, Function, and Fidelity Modulation.

17. Jiang et al, 2014 - Picornavirus Morphogenesis.

18. Malattie infettive M. Moroni settima edizione 2001, Microbiologia medica, Javetz Butel – Morse.

19. S. Barbuti, G.M Fara, G. Giammanco. Igiene, Medicina Preventiva e Sanità Pubblica, Edises, 2014.

20. Heymann, 2008. J. Viral. Hepat. Long-term trends in hepatitis A incidence following the inclusion of Hepatitis A vaccine in the routine nationwide immunization program.

21. Brundage et al., 2006. Am. Fam. Physician. Hepatitis A.

22. Latimer et al., 2007. Vaccine. Prevalence and correlates of hepatitis A among adult drug users: the significance of incarceration and race/ethnicity.

23. Sunthornchart et al., 2008. Addiction. Prevalence of hepatitis B, tetanus, hepatitis A, human immunodeficiency virus and feasibility of vaccine delivery among injecting drug users in Bangkok, Thailand, 2003-2005.

24. Vaccini e Vaccinazioni, Bartolozzi G. Terza edizione. 2012.

25. www.vaccinarsi.org/scienza-conoscenza/vaccini-disponibili/vaccino-anti-epatite-a
26. XI Workshop SEIEVA - Il Sistema Epidemiologico Integrato dell'Epatite Virale Acuta (SEIEVA) a 30 anni dal suo avvio: riflessioni sullo stato dell'arte e prospettive future, 2015.
27. <http://www.iss.it/seieva>
28. <https://www.who.int>
29. Epidemiological update: Hepatitis A outbreak in the EU/EEA mostly affecting men who have sex with men, ECDC 2018).
30. <http://www.epicentro.iss.it/epatite/epidemiologia-italia>
31. <http://www.epicentro.iss.it/epatite/2017>
32. D'Amelio R, Mele A, Mariano A, Romanò L, Biselli R, Lista F, Zanetti A, Stroffolini T. Hepatitis A, Italy. Emerg Infect Dis 2005;11(7):1155–6).
33. Rapid Risk Assessment “Casi di Epatite A tra Men who have Sex with Men in Puglia. Gennaio-Febbraio 2017” a cura dell'Osservatorio epidemiologico, Regione Puglia.
34. <http://www.epicentro.iss.it/epatite/EpatiteAMsm>
35. <https://www.epicentro.iss.it/epatite/bollettino/Bollettino-3-novembre-2018>

